



TITLE:

合成吸着剤を用いた海水中の微量元素の濃縮分離と高感度フロー分析法に関する研究(Dissertation_全文)

AUTHOR(S):

一色, 健司

CITATION:

一色, 健司. 合成吸着剤を用いた海水中の微量元素の濃縮分離と高感度フロー分析法に関する研究. 京都大学, 1987, 理学博士

ISSUE DATE:

1987-05-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k3789>

RIGHT:

| | |
|------|---|
| 新 | 書 |
| 理 | |
| 568 | |
| 京大附図 | |

学 位 申 請 論 文

一 色 健 司

| |
|-----|
| 新 制 |
| 理 |
| 568 |
| |

学 位 審 査 報 告

京大附図

| | |
|---|---------------------------------|
| 氏 名 | 一 色 健 司 |
| 学 位 の 種 類 | 理 学 博 士 |
| 学 位 記 番 号 | 理 博 第 号 |
| 学 位 授 与 の 日 付 | 昭 和 年 月 日 |
| 学 位 授 与 の 要 件 | 学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当 |
| 研 究 科 ・ 専 攻 | 理 学 研 究 科 化 学 専 攻 |
| (学 位 論 文 題 目) 合成吸着剤を用いた海水中の微量元素の濃縮分離と高感度フロー 分析法に関する研究 | |
| 論 文 調 査 委 員 | 主 査 波多野 博 行 松 井 正 和, 加 治 有 恒 |

理 学 研 究 科

(論文内容の要旨)

海水中の微量元素を濃縮分離するために、カラム抽出法を用いた海水中の微量元素の多元素同時濃縮法を開発した。スチレンージビニルベンゼン共重合体を骨格とする合成吸着剤、Amberlite XAD-4 樹脂、に 7-ドデセニル-8-キノリノール (7-(1-vinyl-3,3,5,5-tetramethylethyl)-8-quinolinol, 以下 DDQ と略す) を吸着担持させたキレート樹脂を調製し、この樹脂 (0.57 mmol DDQ/g resin) 500 mg を充填したカラムによって、アルミニウム、ビスマス、カドミウム、銅、鉄、ガリウム、マンガン、ニッケル、鉛、チタンの 10 種類の微量元素が pH 8 の海水から定量的に捕集され、捕集された微量元素は 2 M 塩酸によってカラムから容易に溶離された。また、この方法を用いて海水中の微量元素を濃縮分離し黒鉛炉原子吸光分析法によって定量した。

次に、カラム抽出法を用いたコバルトの濃縮分離法を開発した。試料にキレート試薬を添加して錯形成させた後、生成した錯体を合成吸着剤を充填したカラムに捕集し、コバルト錯体を有機溶媒を用いて溶離する方法によって、海水中の微量コバルトを濃縮した。コバルトは海水中での濃度が非常に低いので、化学種別に分別定量するためには極めて高感度な定量法が必要である。このために、タイロン (disodium 1,2-dihydroxybenzene-3,6-disulfonate) の過酸化水素による酸化反応に対するコバルト(II)の触媒作用を利用したフローシステムを用いることによって、0.1 M 塩酸酸性の試料 1ml 中のコバルトを、1 時間当り最大 40 試料の割合で定量することができた。検出限界は 3 pg/ml における変動係数 (10 回分析) はそれぞれ 1% 及び 3% であった。さらに以上の方法を用いて海水試料の分析を行ない、カドミウム、銅、マンガン、ニッケル、およびコバルトについて正確な定量値を得ることができた。

(論文審査の結果の要旨)

海水中の微量元素の分布や溶存状態について正確な知見を得ることは海水が多量の塩類、溶存有機物、コロイド粒子、懸濁物質、生物などを含む複雑な系であるため、きわめて困難である。申請者は非常に低濃度の微量元素を分離し、それらの元素を溶存状態に応じて分画して分析するための効率のよい濃縮分離法、ならびに従来の機器分析法よりもさらに高感度な分析法を開発した。この目的のためにはカラム抽出法が簡便で効率のよい濃縮法であることに着目し、カラム抽出法を用いた海水中の微量元素の多元素同時濃縮法を開発した。すなわちスチレンー ジビニルベンゼン共重合体を骨格とする合成吸着剤 (Amberlite XAD-4 樹脂) に 7-オードデセニル-8-キノリノールを吸着担持させたキレート樹脂を調製し、この樹脂を充填したカラムによって、アルミニウム、ビスマス、カドミウム、銅、鉄、ガリウム、マンガン、ニッケル、鉛、チタンなどの微量元素を海水から定量的に捕集し、捕集された微量元素を溶離することによって海水中の微量元素を濃縮分離し黒鉛炉原子吸光分析法によって定量する方法を創始した。またカラム抽出法を用いるコバルトの濃縮分離法を開発し、海水中の微量元素コバルトを濃縮分離した。海水中のコバルトの挙動を正確に把握するためには全溶存量だけでなく、化学種別に分別定量する必要があるが、コバルトの海水中での濃度が非常に低いのでその分別定量を行なうために極めて高感度な定量法が必要である。申請者はタイロンの過酸化水素による酸化反応に対するコバルト(II)の触媒作用を利用したフローシステムを開発し、この方法によって海水中のコバルトを定量した。これらの方法を用いると海水試料中のカドミウム、銅、マンガン、ニッケル、およびコバルトの分析を行うことができ、申請者の研究によってえられた結果は最近の報告値をさらに正確に充分証拠づけるものであった。

これらの成果は単に分析化学の分野における新しい方法論の展開であるだけでなく、海洋化学の複雑な系の解析の範となるもので、これらの分野

に貢献するところが大きい。また参考論文の成果をも併せて理学博士の学位を授与されるに値するものと判断される。

なお、主論文及び参考論文に報告されている研究業績を中心とし、これに関連した研究分野について試問した結果、合格と認めた。

学 位 申 請 論 文

合成吸着剤を用いた海水中の微量元素の濃縮分離と
高感度フロー分析法に関する研究

一 色 健 司

目 次

| | |
|--|----|
| 序 章 | 3 |
| 第 1 章 7-オクタセニル-8-キノリノールを担持させた合成吸着剤を用いた海水中の微量元素の多元素同時濃縮 | |
| 1. 1 はじめに | 5 |
| 1. 2 実験 | 8 |
| 1. 2. 1 装置 | |
| 1. 2. 2 試薬 | |
| 1. 2. 3 供試溶液 | |
| 1. 2. 4 DDQ樹脂の調製 | |
| 1. 2. 5 カラムの調製 | |
| 1. 2. 6 実験手順 | |
| 1. 3 結果と考察 | 13 |
| 1. 3. 1 キレート抽出試薬としてのDDQの特性 | |
| 1. 3. 2 DDQ樹脂の特性 | |
| 1. 3. 3 DDQ樹脂カラムを用いたカラム抽出 | |
| 1. 3. 4 海水試料の分析 | |
| 第 2 章 種々のキレート試薬および合成吸着剤を用いた海水中的コバルトの選択的分離 | |
| 2. 1 はじめに | 29 |
| 2. 2 実験 | 29 |
| 2. 2. 1 装置 | |
| 2. 2. 2 試薬 | |
| 2. 2. 3 カラムの調製 | |
| 2. 2. 4 実験手順 | |

| | | |
|-------|--|----|
| 2.3 | 結果と考察 | 34 |
| 2.3.1 | 種々のキレート試薬によるコバルトの抽出挙動 | |
| 2.3.2 | 種々のキレート試薬による人工海水からのコバルトの回収 | |
| 2.3.3 | 沈澱の生成と容器壁への吸着 | |
| 2.3.4 | 酸による溶離 | |
| 2.3.5 | コバルトの選択的分離 | |
| 2.3.6 | TARを用いた海水中的コバルトの回収 | |
| 2.3.7 | 海水試料への適用 | |
| 第3章 | タイロンー過酸化水素反応に対する触媒作用を利用した 超微量コバルトのフロー分析 | |
| 3.1 | はじめに | 50 |
| 3.2 | 実験 | 51 |
| 3.2.1 | 試薬 | |
| 3.2.2 | 装置 | |
| 3.2.3 | フローシステム | |
| 3.3 | 結果と考察 | 52 |
| 3.3.1 | フローシステムの検討 | |
| 3.3.2 | 反応系の検討 | |
| 3.3.3 | 検量線、感度、再現性 | |
| 3.3.4 | 共存物質の影響 | |
| 3.3.5 | 精製水中および海水中的コバルトの分析 | |
| 第4章 | まとめ | 70 |
| 謝辞 | | 72 |
| 参考文献 | | 73 |

序 章

海水中の微量元素は海洋における種々の化学的、物理的あるいは生物的な過程と全地球的な物質循環の過程の関係を明らかにするための重要な指標であり、海洋化学の進歩にともなって、その分布や溶存状態についてのより正確な知見を得る必要性がますます高まりつつある。しかしながら、この様な知見を得ることは、海水中における微量元素の濃度が $\mu\text{g/l}$ レベルあるいはそれ以下で非常に低く、また、海水は多量の塩類、溶存有機物、コロイド粒子、懸濁物質、生物を含む複雑な系であるため、種々の分離法や高感度分析法が確立されている今日においてもなお困難である。したがって、海水中の微量元素のより有効な分離分析法を開発することは分析化学に課された大きな課題の一つである。

海水中の微量元素の分析の歴史は古く、100年以上前から始まったが、一部の元素に関する分析値を除いて、議論に値する確からしい分析値が得られるようになったのは、最近数年のことである。これは、原子スペクトル分析法、放射化分析法、同位体希釈質量分析法、電気化学的分析法などの高感度でかつ選択的な機器分析法の進歩や、クリーン採水器、クリーンルーム、分析に使用する試薬の精製法などのクリーン分析技術の進歩によるものである。しかし、これらの機器分析法によっても海水中の微量元素を直接定量することは、感度が不足していること、大量に共存する塩類による干渉が問題となることのためほとんど不可能であり、適当な方法を用いて目的元素を濃縮分離することが必要である。また、海水中の微量元素は極めて低濃度であるため、試料保存中の容器壁への吸着などによる損失や、分析操作中の外部からの汚染による誤差を避けるためには、採水後船上で直ちに処理できるような簡便でかつ効率のよい濃縮分離法が必要とされている。さらに、非常に低濃度な微量元素を分析したり、目的元素を溶存状態に応じて分画して分析するためには、従来の機器分析法よりもさらに高感度な分析法が必要である。本申請論文では、この様な観点

から、微量元素の簡便で効率のよい分離濃縮法と、より高感度な分析法の確立を試み、以下の成果を得た。

第1章では、カラム抽出法を用いた海水中の微量元素の多元素同時濃縮法を開発した。ここでは、多くの遷移金属イオンと非特異的に錯形成するキレート試薬を吸着させた合成吸着剤を充填したカラムを用いて、多数の元素を同時にしかも定量的に捕集することを試み、10元素を定量的に同時濃縮できることを明らかにした。

第2章では、カラム抽出法を用いたコバルトの濃縮分離法を開発した。コバルトは錯形成すると酸化されて置換不活性錯体となるため、第1章で述べた方法では定量的に回収することができなかった。そこで、試料にキレート試薬を添加し、生成した錯体を合成吸着剤を充填したカラムに捕集し、有機溶媒を用いて錯体のままで溶離することによって、海水中の微量コバルトを濃縮分離した。また、第3章で述べる触媒活性を利用する定量法と組み合わせて用いるために、コバルトのみを選択的に濃縮する方法を開発した。

第3章では、第2章に述べた方法と組み合わせて海水中のコバルトを高感度に定量する方法を確立した。海水中のコバルトの挙動を正確に把握するためには全溶存量だけでなく、化学種別に分別定量する必要があるが、コバルトは海水中での濃度が ng/l レベル程度と非常に低濃度であるので、その分別定量を行なうためには極めて高感度な定量法が必要である。ここでは、触媒活性を用いた分析法が、一般に高感度定量法として用いられている黒鉛炉原子吸光分析法よりもはるかに高感度であることに注目し、フロー分析法を用いることによって再現性よく高感度にコバルトを定量できることを明らかにした。

第1章 7-ドデセニル-8-キノリノールを担持させた合成吸着剤を

用いた海水中の微量元素の多元素同時濃縮

1.1 はじめに

海水中の微量元素の濃縮分離法としては、主として、キレート生成に基づく方法、共同沈澱法、電解濃縮法などが用いられてきた [1]。特に、キレート生成に基づく方法では、溶媒抽出法にかわって、近年、抽出クロマトグラフィーの手法を利用するカラム抽出法が用いられるようになってきた。この方法は、溶媒抽出法と比較すると、以下に示すような利点をもっている [2]。

(1) 大容量の試料を簡単な操作で処理することができる。

(2) 溶媒-水間の相互溶解による濃縮率の限界がなく、濃縮率を大きくすることができる。

(3) ほぼ完全な密閉系で操作を行なうことによって、外部からの汚染を最小限に抑えることができる。

これらの利点があるため、カラム濃縮法は、海水中の微量元素の濃縮分離法に対して非常に有効な方法となっている。

カラム抽出法には大別して次の3つの方式がある。

(A) キレート試薬を化学的に結合させて固定した担体を充填したカラムを用いる方法 [3-5]

(B) キレート試薬を表面に吸着させた吸着剤を充填したカラムを用いる方法 [6-12]

(C) キレート試薬を試料に添加して目的元素と錯形成させたのちに吸着剤を充填したカラムで捕集する方法 [13-19]

方式(A)および方式(B)では、カラムに捕集された金属は、通常、鉱酸類を用いてキレート試薬から解離させることによって溶離する。多くの金属イオンは酸によって定量的に溶離回収することができるので、方式(A)および

方式（B）は有効な方法である。この2つを比較すると、前者では、種々の官能基をもったキレート樹脂が開発されているが、合成に手間がかかり、固定できる官能基も限られるという欠点がある。これに対して、後者は目的元素に応じて幅広くキレート試薬の選択ができ、また、キレート試薬を担持させた担体の調製が容易であるという利点を持つ。

方式（B）に用いるキレート試薬は、化学的に安定であること、水に対する溶解度が小さく、担体に強く吸着されることが必要である。また、多元素同時濃縮のためには、同一の条件下でできるだけ多種類の金属イオンと錯形成する能力を持つことが望ましい。オキシシン（8-quinolinol）は、多くのイオンと水相において非常に大きな生成定数で錯形成するキレート試薬としてこれまで広く用いられてきた。また、その溶媒抽出挙動は Stary[20]によって詳しく検討されている。しかし、オキシシンは水溶性が比較的大きいため、担体上に吸着させて用いた場合、調製した担体をくりかえし使用することは困難である。一方、オキシシンの水溶性を小さくして溶媒抽出の効率を上げる目的で、オキシシン分子に疎水性の大きな置換基を導入した試薬が開発されている。7-ドデセニル-8-キノリノール（以下DDQと略す；7-(1-vinyl-3,3,5,5,-tetramethylhexyl)-8-quinolinol）はこの目的で合成されたオキシシン誘導体の一つである。DDQは液状イオン交換体Kelex-100の主成分であり[21]、その構造式をFig. 1-1に示す。有機相-水相間のDDQの分配に関する検討結果によると[22]、DDQの分配比はオキシシンに比べて3桁以上も大きいとされており、疎水性の吸着剤に強く吸着されることが期待できる。

本研究では、DDQを合成高分子吸着剤XAD樹脂に担持させたキレート吸着剤を調製し、方式（B）による海水中の微量元素の濃縮分離法について検討した。まず、種々の金属イオンについてDDQの溶媒抽出特性を検討してオキシシンの場合と比較し、次にDDQを担持させたXAD樹脂を用いてバッチ法で

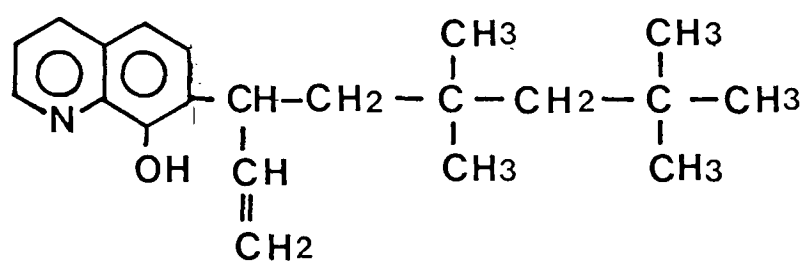


Fig.1.1 7-(1-vinyl-3,3,5,5-tetramethylhexyl)-8-quinolinol (DDQ)

抽出特性を検討し、溶媒抽出の結果と比較した。そののち、DDQ担持樹脂によるカラム抽出について検討を行ない、最後にこれを海水試料の分析に適用した。

1. 2 実験

1. 2. 1 装置

本研究に使用した分析機器は以下の通りである。

原子吸光分析装置：日本ジャーレルアッシュ社製原子吸光分析装置AA-8200。

黒鉛炉原子化装置：日本ジャーレルアッシュ社製黒鉛炉原子化装置FLA-100。

紫外一可視分光光度計：島津製作所製UV-240。

振とう機：東京岩城社製KMシェーカーモデルV-D。

pHメーター：堀場製作所製F-7型pHメーター。

また、本実験に使用したすべての容器類、カラム部品類、チューブは、アルカリ性界面活性剤に一昼夜浸し、水で洗浄し、4 M塩酸に一昼夜浸し、加熱した4 M硝酸で洗浄後、水でよく洗浄したのちに用いた。

1. 2. 2 試薬

Kelex-100 (DDQを含む) (Ashland Chemical社製) はLakshmananら[24]の方法によって精製した。適当な量のKelex-100をトルエンに溶解し、1 M塩酸と共に何度か振り混ぜて、オキシシンおよびその低次の誘導体を除去した。そののち、トルエン相を水でよく洗浄し、溶媒を除去してシリカゲル上で減圧乾燥させた。

DDQの担体には、精製XAD-4樹脂および精製XAD-7樹脂(ガスクロ工業社製)を以下のように処理して用いた。XAD樹脂にアセトン-水の混合物を加えて、乳鉢と乳棒ですりつぶしたのち、ナイロンメッシュのふるいに

かけて100～200メッシュの粒径のもののみを得た。この樹脂をメタノール+4M塩酸(1+1)に一昼夜浸し、そののち水でよく洗浄した。

塩酸およびアンモニア水は市販の特級試薬を等温蒸留法によって精製したものを用いた。金属イオンの標準溶液には、市販の原子吸光分析用標準溶液(1g/l)を用いた。その他の試薬は、すべて市販の分析用特級試薬を用いた。水は、ミリポア社製Milli-Qシステムで精製したものを用いた。

1.2.3 供試溶液

抽出実験には以下の水溶液を調製して用いた。

抽出率のpH依存性を調べる実験には、酢酸緩衝溶液またはホウ酸緩衝溶液を含む0.1M過塩素酸ナトリウム溶液を用いた。人工海水[25]は、Table 1.1に従って調製したものをヌクレポアフィルター(ポアサイズ:0.4μm)でろ過したのち、重金属不純物を除くためのDDQ樹脂カラム、およびそこからもれ出てきたDDQを含む有機物不純物を除くためのXAD-4樹脂カラムに通じて精製したものを用いた。

海水は、1983年12月、東京大学海洋研究所の研究船淡青丸によるKT-83-12航海において、日本近海のstation 1(35°01'N、141°46'E)で、クリーン採水器[23]を用いて採水した。試料海水は、採水後直ちにヌクレポアフィルター(ポアサイズ:0.4μm)でろ過したのち、塩酸を加えてpH3とし、あらかじめ洗浄したポリエチレン瓶にいれて保存した。

1.2.4 DDQ樹脂の調製

DDQを担持させた樹脂(以下DDQ樹脂と略す)は以下のようにして調製した。乾燥させたXAD樹脂を秤量してビーカーにとり、適当な量のDDQを含むアセトン40mlと濃塩酸10mlを加えて、マグネティックスタラーでよく攪拌しながら水950mlをゆっくりと加えていき、XAD樹脂にDDQを担持させた。樹脂は、ろ過によって上澄みから分離し水でよく洗浄して、水

Table 1.1. Composition of Artificial Seawater.

| salt | weight (g/kg SW.) |
|---------------------------------|-------------------|
| NaCl | 23.447 |
| MgCl ₂ | 4.981 |
| Na ₂ SO ₄ | 3.917 |
| CaCl ₂ | 1.102 |
| KCl | 0.664 |
| NaHCO ₃ | 0.192 |
| KBr | 0.096 |
| H ₃ BO ₃ | 0.026 |
| SrCl ₂ | 0.024 |
| NaF | 0.003 |

Ref.25.

中に懸濁させた状態で保存した。DDQの担持量は、上澄み中に残存するDDQ量を吸光光度法で定量して求めた。

1. 2. 5 カラムの調製

DDQ樹脂 (0.57 mmol DDQ/g resin) を調製し、500 mgのDDQ樹脂 (76 mgのDDQと424 mgのXAD-4樹脂からなる) を水中に懸濁させたまま、Fig 1.2に示したカラムに充填した。カラムは、4 M塩酸および水でよく洗浄して実験に供試した。各実験の後に、カラムを水で十分に洗浄し、次の実験に用いた。

1. 2. 6 実験手順

DDQによる溶媒抽出：分液ろうとに一定量の金属イオンを含む緩衝溶液200 mlをとり、0.04 MのDDQトルエン溶液100 mlを加えて、一定時間振とうした。約5分間静置して有機相と水相を分相させたのち、水相中の金属イオンをフレイム原子吸光分析法 (FAAS) または黒鉛炉原子吸光分析法 (GFAAS) で測定した。また、水相のpHを測定し、これを抽出平衡時のpH値とした。

水相－樹脂間のDDQの分配：水相として、2 M塩酸、pH 8の緩衝溶液、人工海水について検討した。0.4 gのXAD樹脂に適当な量のDDQを担持させ、これに50 mlの水相を加えて、15分間振とうしたのち、ヌクレポアフィルター (ポアサイズ：0.4 μ m) で樹脂をろ別し、水相中のDDQを定量した。定量は、水相が2 M塩酸のときは、水相の253 nmにおける吸収を直接測定することによって、また、水相がpH 8緩衝溶液および人工海水のときは、水相に濃塩酸5 mlを加えて2 mlのヘプタンに抽出したのちに247 nmの吸収を測定することによって行なった。

吸着容量の測定：吸着容量の測定は、カドミウム(II)、銅(II)、マンガン(II)およびニッケル(II)について行なった。1 gのXAD-4樹脂に0.57 m

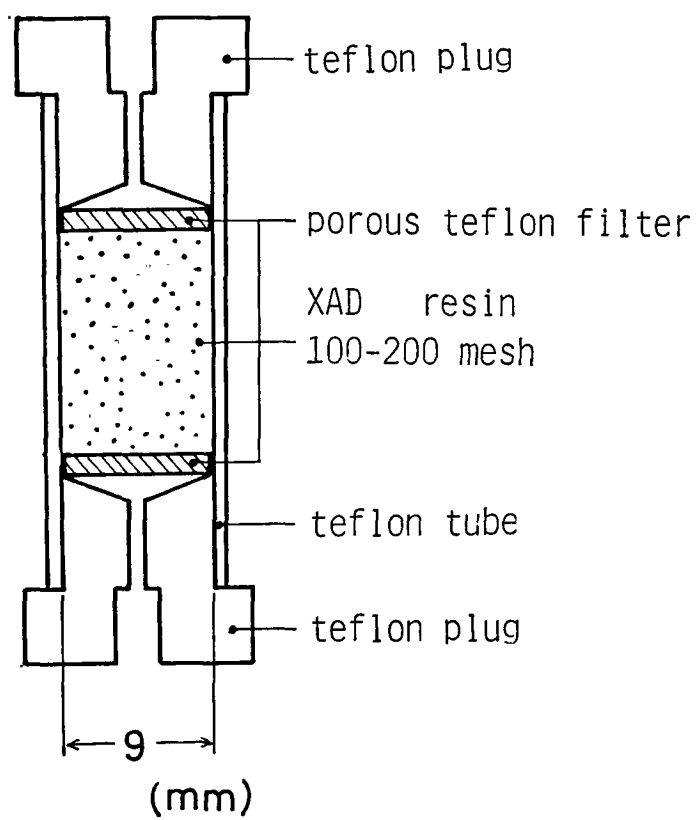


Fig.1.2. Column used for the preconcentration experiments.

mmolのDDQを担持させ、金属イオン1mmolを含むpH8の緩衝溶液100mlを加えて、2時間振とうした。樹脂をろ過によって上澄みから分離し、水でよく洗浄したのち、吸着した金属を50mlの2M塩酸で溶離してFAASで定量した。

DDQのカラムからの溶出量の測定：2M塩酸、pH8の緩衝溶液、または人工海水500mlをとり、ペリスタルティックポンプを用いてDDQ樹脂カラムに通し（流速：3.0ml/min）、分配の実験の項で述べた方法で溶出液中のDDQを測定した。

DDQ樹脂によるカラム抽出：一定量の金属イオンを添加した人工海水または海水試料500mlをとり、塩酸またはアンモニア水でpHを8に調整したのち、ペリスタルティックポンプを用いてDDQ樹脂カラムに通した（流速：3.0ml/min）。カラムをpH8の希アンモニア水20mlで洗浄したのち、カラム中に捕集された金属イオンを8mlの2M塩酸でバックフラッシュによって溶離した（流速：3.0ml/min）。溶出液を蒸発乾固し、0.5mlの濃硝酸と0.25mlの30%過酸化水素水を加え、加熱して有機物を分解した。残渣を0.1M硝酸に溶解して、GFAASで定量した。ブランク値の測定は、各試料の分析操作後に、カラムに2M塩酸8mlを通して、溶出液を上 に述べた方法で処理して測定した。

すべての操作は、外部からの汚染を避けるためにクリーンボックス内で行なった。

1.3 結果と考察

1.3.1 キレート抽出試薬としてのDDQの特性

DDQを用いた溶媒抽出では、DDQを単独で用いる場合のほか、オキシム（例えばVersatic 911）やフェナンスロリン等と共に用いる例が報告されている[24,26-30]。ここでは、キレート抽出試薬としてのDDQの性質をオキシシ

と比較検討するために、まず、溶媒抽出による抽出挙動の検討を行なった。Table 1.2に金属イオンが定量的に有機相に抽出されるpH範囲と抽出平衡に達するのに要する時間を示す。Stary[20]によるオキシンのデータも同時に示した。一部の金属イオンを除いて、DDQによる抽出挙動はオキシンの場合とよく似ているが、抽出平衡に達するのに要する時間はオキシンの場合に比べてかなり長い。特に、鉄(III)は、オキシンでは2～3分で抽出平衡に達するのに対して、DDQでは6～5時間を必要とした。これは、DDQの水相への溶解度がオキシンに比べて非常に小さいためであると考えられる。また、海水の標準的なpHである8付近でほとんどの金属イオンは定量的に抽出されている。検討した金属イオンの中で、マグネシウム(II)はオキシンとは異なり、DDQによってほとんど抽出されなかった。このことは、海水のようにマトリックスとして多量のアルカリ土類金属イオンを含むような試料から微量金属イオンを分離するためには、オキシンよりもDDQのほうが有効であることを示している。

1.3.2 DDQ樹脂の特性

Amberlite XAD樹脂は、巨大網目構造を持った合成吸着剤である。その構造は、Table 1.3に示したように、XAD-2樹脂およびXAD-4樹脂はスチレン、ジビニルベンゼンの共重合体であり、XAD-7樹脂およびXAD-8樹脂はアクリル酸エステル重合体である。これらの樹脂は、多孔性のため非常に大きな比表面積を持ち、またその表面の疎水性が大きいため、各種の有機化合物に対して非常に高い吸着能力を持っている。そのため、これらの樹脂は水溶液中の微量有機物を回収するための吸着剤として広く利用されている[31,32]。一方、シリカゲルの表面にシリル化によって疎水性の大きな基を結合させた吸着剤、たとえばODS(octadecyl-silicagel)なども吸着剤としてよく用いられるが、これらの吸着剤は酸によってシリル結合が切れて疎水性の

Table 1.2. Extraction Behaviors of DDQ and Oxine.

| metal ion | DDQ (0.04 M in toluene) | | oxine ^a (0.10 M in chloroform) | |
|-----------|-------------------------|------------------------------|---|------------------------------|
| | pH range ^b | extraction time ^c | pH range ^b | extraction time ^c |
| Ag(I) | 9.0 - | 30 min | d | |
| Al(III) | 6.5 - 7.5 | 30 min | 4.0 - | 2 - 3 min |
| Bi(III) | 3.0 - | 30 min | 3.0 - | 2 - 3 min |
| Cd(II) | 6.0 - | 30 min | 6.0 - | 2 - 3 min |
| Cu(II) | 1.5 - | 30 min | 2.5 - | 2 - 3 min |
| Fe(III) | 2.0 - | 6.5 hr | 2.0 - | 2 - 3 min |
| Ga(III) | 4.5 - | 30 min | 2.0 - | 2 - 3 min |
| Mg(II) | e | | 9.0 - | 2 - 3 min |
| Mn(II) | 8.0 - | 30 min | 8.0 - | 2 - 3 min |
| Ni(II) | 3.0 - | 6.0 hr | 4.0 - | some hrs |
| Pb(II) | 7.5 - | 30 min | 6.5 - | 2 - 3 min |
| Ti(III) | 2.0 - | 6.5 hr | 2.0 - | 1 - 2 hr |

^a Ref 20.

^b pH range at which quantitative recovery was obtained.

^c Extraction time required to reach extraction equilibrium.

^d Recovery is insufficient at pH 1 - 11.

^e Not extracted at all at pH 1 - 9.

Table 1.3. Physical Properties of Macroporous Resins

| resin | substrate | specific pore volume cm^3/g | specific surface m^2/g | average pore diameter nm | dipole moment D |
|-------|---------------|---|--|--------------------------------|-----------------------|
| XAD-2 | styrene-DVB | 0.69 | 300 | 9.0 | 0.3 |
| XAD-4 | styrene-DVB | 1.00 | 784 | 5.0 | 0.3 |
| XAD-7 | acrylic ester | 1.08 | 450 | 9.0 | 1.8 |
| XAD-8 | acrylic ester | 0.82 | 140 | 23.5 | 1.8 |

修飾基が脱離してしまうという欠点を持っている。これに対して、XAD樹脂は、化学的には極めて安定な構造を持っており、酸、塩基あるいは有機溶媒などによってもその吸着特性が損なわれることはない。したがって、本研究では吸着剤としてXAD樹脂を用いた。また、同じ骨格を持った樹脂を比較すると、比表面積あるいは比孔体積が大きいほど吸着能力が高いとされている[12,32]ので、ここでは一連のXAD樹脂のうち、疎水性が大きくほとんど極性を有しない樹脂としてXAD-4樹脂、やや極性を有する樹脂としてXAD-7樹脂を用いた。

担体となる吸着剤に、水に対する溶解度の低いキレート試薬を担持させる方法としては、吸着剤を充填したカラムにキレート試薬の溶液を通して吸着させる方法[10]や、キレート試薬の溶液に担体を浸して吸着させる方法[6,11]、キレート試薬の溶液に担体を添加したのちに溶媒をゆっくりと蒸発させる方法[8,12]がとられている。本研究で行なった方法は、これらの方法と比較して、

(1) 水に対する溶解度の低いキレート試薬を吸着剤表面に均一に吸着させることができる、(2) 水相の液性を酸性に保つことによって、吸着剤にキレート試薬を担持させていく過程で、同時に試薬中に不純物として含まれている金属を除去することができる、(3) 疎水性の樹脂や、疎水性のキレート試薬を大量に吸着させた吸着剤は乾燥させると水になじまなくなる、すなわち表面が撥水性を持つため水中に分散せず水溶液表面に浮いてしまうが、この方法では、調製した時点で水中に分散した状態になっているため、特に水になじませる操作を必要としない、などの利点がある。

XAD-4樹脂およびXAD-7樹脂に対するDDQの保持特性を調べるために、水相-樹脂間でのDDQの分配について検討を行なった。結果をTable 1.4に示す。DDQの有機相-水相間の分配については、Cote[22]らがn-オクタノールを用いて詳細な検討を行なっているが、それによると、DD

Table 1.4. Logarithm of Distribution Ratio of DDQ between Aqueous Phase and XAD Resins^a

| resin | aqueous phase | DDQ loaded, mol/kg | | | |
|-------|------------------|--------------------|-----|-----|-----|
| | | 0.25 | 0.5 | 0.7 | 0.9 |
| XAD-4 | pH8 ^b | 6.7 | 6.8 | 6.8 | 7.0 |
| | ASW ^c | 6.5 | 6.8 | 6.9 | 7.2 |
| | HCl ^d | 5.4 | 5.6 | 5.4 | 4.3 |
| XAD-7 | pH8 ^b | 5.8 | 6.3 | | |
| | ASW ^c | 5.9 | 5.8 | | |
| | HCl ^d | 3.7 | 3.7 | | |

^a Distribution ratio, D, is defined as

$$D = [\text{DDQ on the resin (mol/kg)}] / [\text{DDQ in the aqueous phase (mol/L)}]$$

^b Buffer solution of pH 8.

^c Artificial seawater.

^d The concentration of hydrochloric acid is 2 M.

Qの分配比の対数は、水相が1 M硫酸のときおよびpH 8の緩衝溶液のときでそれぞれ3.0および6.5となっている。一方、XAD樹脂の場合は、pH 8緩衝溶液に対しては、平均するとXAD-4樹脂は6.8、XAD-7樹脂は6.1となっており、有機溶媒に対する分配比とほぼ同程度であるが、水相が酸性の場合には、平均するとXAD-4樹脂は5.2、XAD-7樹脂は3.7となっており、有機溶媒に対する値よりも大きい。これは、DDQの樹脂に対する分配は、有機溶媒に対する分配に比べて、DDQのプロトン付加によって荷電をもつことの影響をはるかに受けにくいためであると考えられる。また、XAD-4樹脂とXAD-7樹脂を比較すると、XAD-4樹脂の比表面積はXAD-7樹脂の約1.7倍にすぎないにもかかわらず (Table 1.3)、DDQの分配比は1ないし2桁大きい。この違いは、DDQと樹脂との疎水的相互作用、特に芳香族環の π 電子系の相互作用が吸着に大きく影響しているためであろう。Parrish[12]は、DDQを種々の樹脂に担持させて、銅(II)の吸着速度の比較を行ない、吸着速度と樹脂の保水率との間に相関があることを見だし、XAD-7樹脂が担体として最も優れていると報告しているが、DDQの分配についてはまったくふれていない。本研究によれば、抽出効率にとって重要なファクターであるDDQの分配に関しては、XAD-4樹脂の方がXAD-7樹脂より優れている。さらに、酸によって錯形成した金属イオンを分離したのち樹脂カラムを再使用する際に、DDQの損失をできるだけ少なくするには、酸性の水相に対する分配が小さいことが必要であるが、この点に関してもXAD-4樹脂の方が有利である。したがって、以後の実験では、吸着担体としてXAD-4樹脂を用いた。

DDQ樹脂 (0.57 mmol/g resin) に対する吸着容量は、カドミウム(II)、銅(II)、マンガン(II)およびニッケル(II)について、それぞれ、0.520 mmol/g resin、0.550 mmol/g resin、0.512 mmol/g resin

resinおよび $0.521\text{ mmol/g resin}$ となった。したがって、吸着した金属イオン(M)とDDQ(L)の比は、 $M:L = \text{ca.} 1:1.1$ となる。これは、樹脂上では金属イオンの大部分が1:1錯体を形成していることを示している。溶媒抽出の場合と異なるこの錯形成挙動は、他のキレート樹脂においても見られる[32,33]。

DDQ樹脂による金属イオンの吸着挙動をバッチ法で検討した結果をFig. 13に示す。この結果は、先に示した溶媒抽出による結果とほぼ一致している。なお、ほとんどの金属イオンは30分間の振とうによって吸着平衡に達したが、鉄(III)、ニッケル(II)、チタン(IV)は吸着平衡に達するのに約2時間の振とうを要した。

1.3.3 DDQ樹脂カラムを用いたカラム抽出

DDQ樹脂を充填したカラムを用いて海水中の微量元素の多元素同時濃縮を行なうために、次のような予備検討を行なった。

1回の濃縮溶離操作にともなうカラム中のDDQの損失： 500 ml の2M塩酸、pH 8の緩衝溶液および人工海水によってカラムから溶出したDDQ量は、それぞれ、 $1.4 \times 10^{-6}\text{ mol}$ 、 $8.5 \times 10^{-11}\text{ mol}$ 、 $3.0 \times 10^{-9}\text{ mol}$ であった。この値から、1回の濃縮溶離操作にともなうカラムから溶出して失われるDDQ量を計算すると、 $2.54 \times 10^{-8}\text{ mol}$ となる。これは、カラム中の樹脂に担持したDDQ量の約0.01%である。したがって、充填したDDQ樹脂の吸着容量をほとんど損なうことなく、カラムを再使用することが可能である。

溶離：カラムに捕集された金属イオンの溶離には、等温蒸留法によって容易に精製することのできる塩酸を用いた。各金属イオン $5\text{ }\mu\text{g/l}$ を含む人工海水 250 ml について濃縮溶離操作を行ない、溶出液を 1 ml ずつのフラクションにわけたときの、各フラクションに含まれる金属量を測定した結果を

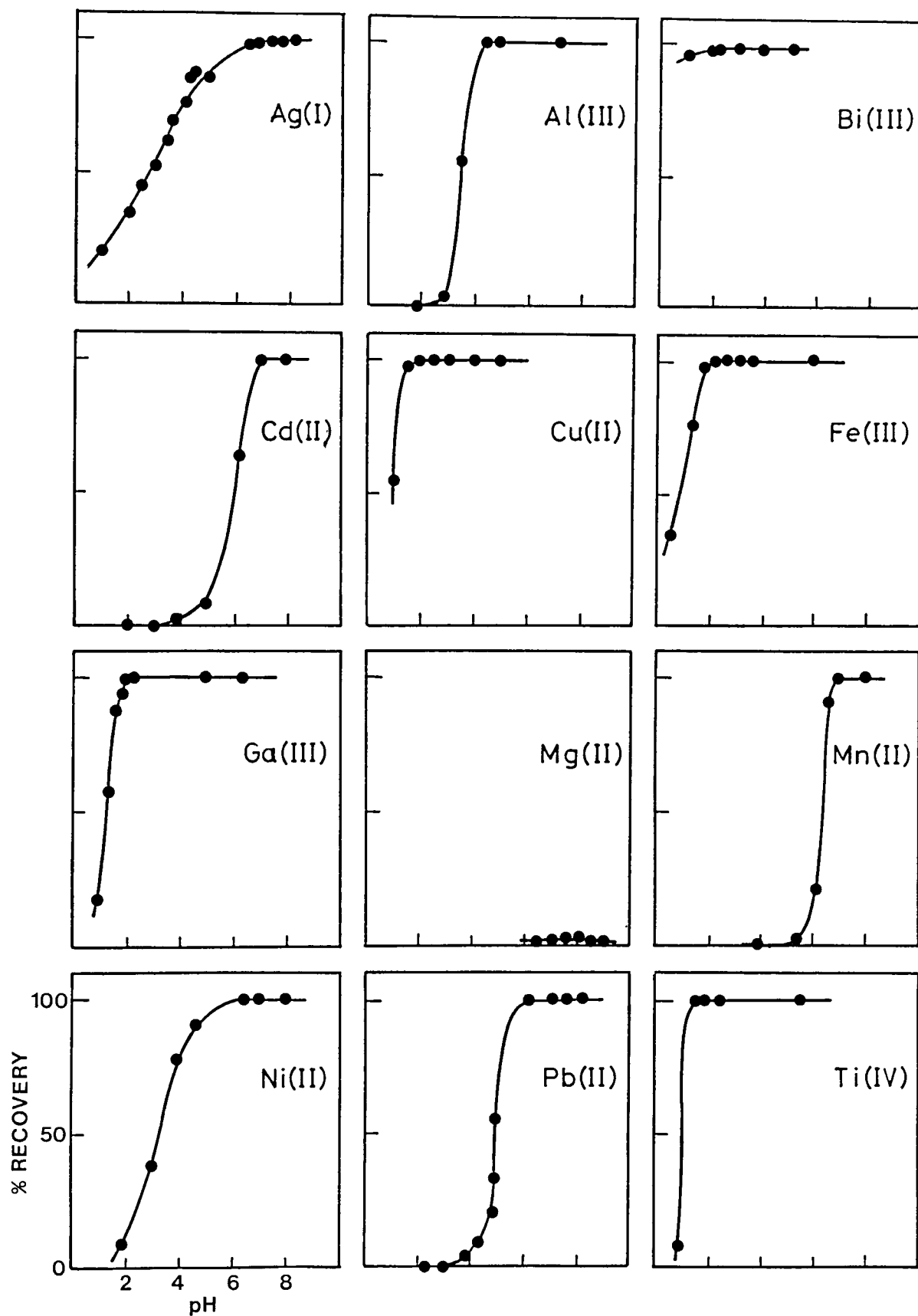


Fig.1.3. Percent recovery of metal ions with the DDQ-impregnated XAD-4 resin as a function of pH. The concentration of metal ions is 2 mg/L.

Fig 1.4 に示す。この結果から、樹脂カラムのデッドボリュームは 1 ml 以下であるということ、バッチ法では吸着速度の遅かった鉄(III)、ニッケル(II)を含めて、金属イオンは 7 ml の溶離液で回収されることがわかった。したがって、以下の実験では溶離液量を 8 ml とした。

ブランク：海水中の極微量の元素を分析する際には、1 回の分析操作による目的元素のブランク値をできるだけ小さくすることが重要である。ブランクには、採水時や分析操作の途中での外部からの汚染によるものと、分析操作中に試料に加えられた試薬中に含まれている不純物によるものとがある。ここでは、1 回の濃縮溶離操作によるブランクの絶対値を求めた。Table 1.5 に結果を示す。銀、ビスマス、銅、マンガン、ニッケル、チタンについては、ブランクは GF A A S の検出限界以下であった。また、他の金属については、ブランクが検出されたが、その再現性は満足できる程度であった。また、そのブランク値は、濃縮溶離操作中に加えた試薬のブランク値の合計とほぼ一致した。Table 1.5 には 1.2.6 に示した手順で分析したときの検出限界 (2σ) を海水中の濃度に換算した値も示した。この値は、ブランク値の変動による検出限界を濃縮率（ここでは 500）で割ったものである。ブランク値が GF A A S の検出限界以下のときは、GF A A S の吸光度信号のベースラインの変動から計算した。

人工海水からの金属イオンの回収：人工海水に標準添加した金属イオンの回収率を Table 1.6 に示す。銀(I)は、pH 8 の緩衝溶液からは定量的に回収されたが、海水中では安定なクロロ錯体を生成するため、定量的には回収されなかった。また、コバルト(II)およびクロム(III)については溶媒抽出および DDQ 樹脂を用いたバッチ法による抽出の検討は行なわなかったが、ここでは他の金属と同時に検討を行なったので、その結果も Table 1.6 に示した。クロム(III)は、この方法ではまったく回収することができなかった。

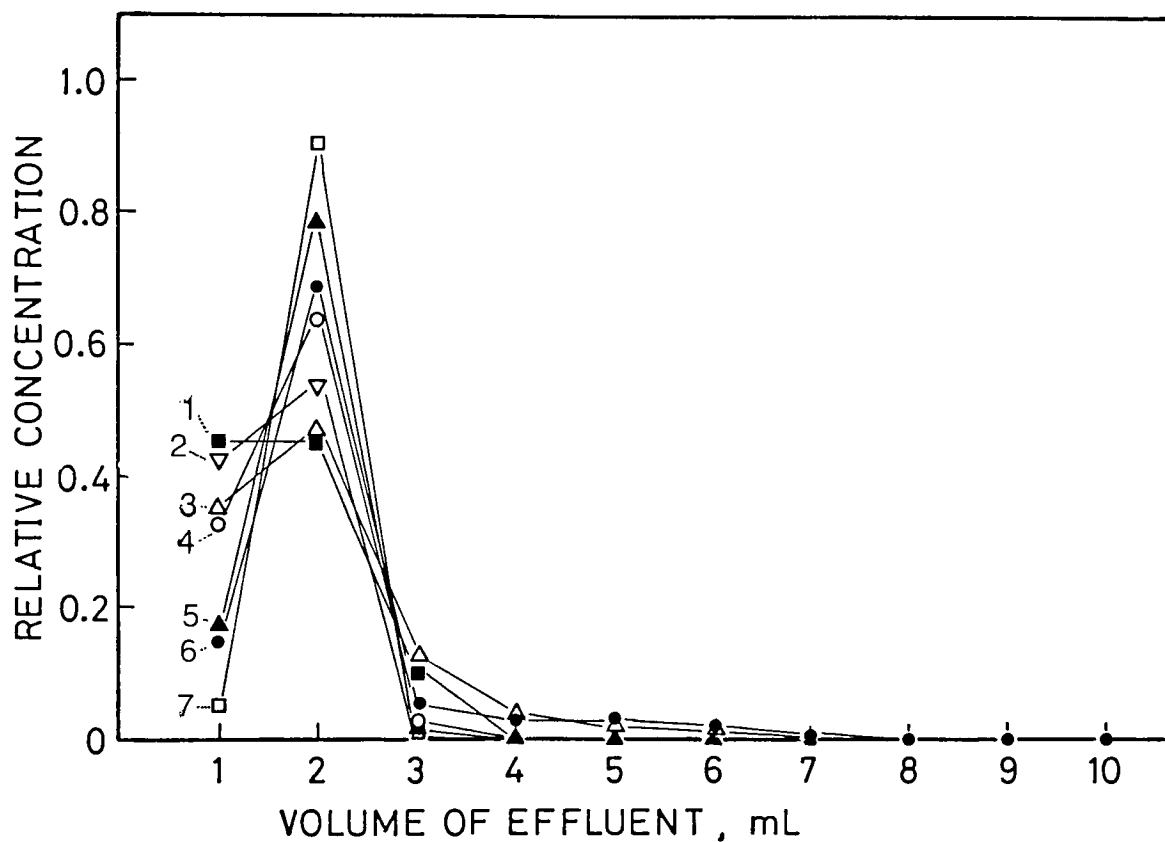


Fig.1.4. Typical elution curves of metal ions collected in the column with back-flush elution. The concentration of metal ions is 5 $\mu\text{g/L}$. Ga (1), Pb and Mn (2), Cd (3), Ni (4), Cu (5), Fe (6), Bi (7).

Table 1.5. Absolute Analytical Blanks and Detection Limits

| metal ion | blank ^a , ng | detection limit, ng/L |
|-----------|-------------------------|-----------------------|
| Ag(I) | < 0.05 | 0.1 |
| Al(III) | 30 ± 9 | 36 |
| Bi(III) | < 1 | 2 |
| Cd(II) | 0.05 ± 0.01 | 0.04 |
| Cu(II) | < 1.5 | 3 |
| Fe(III) | 18 ± 2 | 8 |
| Ga(III) | 0.8 ± 0.1 | 0.4 |
| Mn(II) | < 0.5 | 1.0 |
| Ni(II) | < 3 | 6 |
| Pb(II) | 0.9 ± 0.2 | 0.8 |
| Ti(IV) | < 100 | 200 |

^a Mean and standard deviation of ten individual analytical runs.

Table 1.6. Recovery of Metal Spikes from Artificial Seawater

| metal ion | spiked, ng | found ^a , ng | recovery, % |
|-----------|------------|-------------------------|-------------|
| Ag(I) | 20 | 14.6 ± 1.1 | 73 ± 5 |
| Al(III) | 400 | 426 ± 21 | 107 ± 5 |
| Bi(III) | 100 | 100 ± 2 | 100 ± 2 |
| Cd(II) | 100 | 97 ± 2 | 97 ± 2 |
| Co(II) | 100 | 63 ± 12 | 63 ± 12 |
| Cr(III) | 100 | < 1 | < 1 |
| Cu(II) | 100 | 97 ± 7 | 97 ± 7 |
| Fe(III) | 100 | 98 ± 5 | 98 ± 5 |
| Ga(III) | 60 | 57 ± 2 | 95 ± 4 |
| Mn(II) | 100 | 91 ± 2 | 91 ± 2 |
| Ni(II) | 300 | 290 ± 12 | 97 ± 4 |
| Pb(II) | 100 | 95 ± 4 | 95 ± 4 |
| Ti(IV) | 2500 | 2420 ± 180 | 97 ± 7 |

^a Mean and standard deviation for five individual determinations.

これは、水和クロム(III) イオンが極めて置換不活性なのでDDQとまったく錯形成しないためであると考えられる。また、コバルト(II)は回収率が低く、回収率のばらつきも他の金属に比べて大きかった。これは、溶媒抽出の場合[28]と同様、錯形成したコバルト(II)の一部が溶存酸素によって酸化されて置換不活性なコバルト(III) 錯体となったためであると考えられる。その他の金属イオンについては、満足できる結果が得られた。

1. 3. 4 海水試料の分析

日本近海で採取した海水中の微量元素をカラム抽出法を用いて濃縮しGFAAS法によって定量した。濃縮率は500倍とした。ブランクの補正については、1回の濃縮溶離操作ごとにブランク値の定量を行ない、これを差し引くという方法で行なった。6種類の金属について分析した結果をTable 1.7に示す。ここに示したデータは、回収率が100%であると仮定して計算したものである。

海水中に溶存している金属の一部は、溶存有機物と錯形成したり無機あるいは有機コロイド粒子に吸着しているということが、Florence[35]によって指摘されている。しかし、これらのうち容易に解離するものについては海水試料を酸性状態にして保存している間に解離してしまっている。また、DDQはオキシンと同様非常に大きな錯形成能をもっているので、金属イオンがかなり強く会合していない限りDDQによって引き抜かれる。したがって、Table 1.7に示したデータは、フリーの金属イオンおよび容易に解離する会合体（いわゆる labile metals）の合計の濃度を表わしているものと考えられる。

得られた分析値を他の報告による値と比較すると、カドミウム、銅、ニッケルおよびマンガンについては、北東太平洋における Bruland[36]による値（Cd：0.26～56 ng/kg、Cu：34～87 ng/kg、Ni：146～320 ng/kg）および Landingら[37]による値（Mn：50～200 ng/kg）とよく一致している。

Table 1.7. Analysis of Seawater Samples^a

| depth, m | concentration, ng/L | | | | | |
|----------|---------------------|----|-----|-----|-----|------|
| | Cd | Cu | Fe | Mn | Ni | Pb |
| 0 | 10.1 | 40 | 230 | 120 | 130 | 310 |
| 100 | 6.7 | 49 | 320 | 99 | 160 | 330 |
| 200 | 19 | 36 | 540 | 71 | 180 | 750 |
| 300 | 40 | 39 | 280 | 49 | 220 | 660 |
| 400 | 38 | 40 | 960 | 99 | 250 | 1600 |

^aSingle determination.

／k g) とよく一致している。鉄については、北東太平洋におけるGordonら [38] による値 (F e : 8 . 4 ~ 1 4 5 n g / k g) と比べると、数倍高い。鉛については、北東太平洋におけるShauleら [39] による値 (P b : 1 2 n g / k g) と比べると、2 5 倍以上も高い。鉄、鉛については、沿岸海域における濃度が外洋水に比べてかなり高いという報告もあり、これらの分析値が、本研究で分析した試料を採取した海域に特徴的なものであるかどうかについては、今後検討すべき課題である。

第2章 種々のキレート試薬および合成吸着剤を用いた海水中の

コバルトの選択的分離

2.1 はじめに

第1章に述べた方法で多くの金属イオンは効率よく捕集することが可能であったが、コバルト(II)は錯形成すると溶存酸素やキレート試薬によって容易に酸化されて、容易に解離しない置換不活性なコバルト(III)錯体となるため、酸によって溶離されず、定量的に回収することができなかった。一方、1.1で述べた方式のうち、方式(C)では、カラムに捕集された置換不活性なコバルト錯体は、有機溶媒によって錯体のままで容易に溶離することができるので、コバルトを定量的に回収することが可能である。方式(B)の場合も、有機溶媒による溶離は可能であるが、捕集効率を上げるためにはカラム中の吸着剤に多量のキレート試薬を担持させなければならず、カラムに捕集されたコバルト錯体を定量的に溶離するためには大量の有機溶媒を必要とし、また、カラムを再使用するためには新たに担体を調製しなければならないので、この方法は現実的ではない。したがって、海水中的コバルトの濃縮分離には、方式(C)が最も適していると考えられる。

本研究では、方式(C)による海水中的コバルトの濃縮分離について、種々のキレート試薬を用いて検討した。吸着剤は、1.3.2に述べた理由からXAD-4樹脂およびXAD-7樹脂を用いた。また、この方法を第3章で述べるフロー分析法によって定量するための前処理として用いるために、コバルトを他の金属から分離する方法についても検討した。

2.2 実験

2.2.1 装置

本研究に使用した分析機器は1.2.1で述べたものと同じである。

また、 ^{57}Co の定量には、パッカー社製オートガンマI-5110 γ 線シ

ンチレーションカウンターを用いた。

2. 2. 2 試薬

コバルトを捕集するためのキレート試薬としては、Table 2.1に示したものをを用いた（以後の文中ではこの表に示した略称を用いた）。また、これらの構造式をFig. 2.1に示した。キレート試薬溶液は、市販の分析用特級試薬を水またはメタノールに溶解して調製した。すべてのキレート試薬について、コバルトのブランク値は、添加実験において加えたコバルト量に対して無視できる値であった。コバルト(II)の標準溶液は硝酸コバルト ($\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) を 0.1 M 塩酸に溶解して調製した。その他の金属イオンの標準溶液は、市販の原子吸光分析用標準溶液を用いた。その他のすべての試薬は市販の分析用特級試薬を、コバルトのブランクが無視できる量であることを確認した上で、そのまま用いた。

人工海水は、1.2.3で述べた方法で精製して用いた。

海水試料は、1984年9月、東京大学海洋研究所観測船白鳳丸によるKH-84-3航海で、station 1 (29°05'N、142°51'E)において採水した。海水試料は、採水後すみやかにヌクレポアフィルターによってろ過し、塩酸を加えてpHを3とし、十分に洗浄したポリエチレン瓶にいれて保存した。

すべての水溶液は、蒸留水をミリポア社製Milli-Qシステムで精製した超純水を用いて調製した。

吸着剤には、精製XAD-4樹脂および精製XAD-7樹脂（ガスクロ工業社製）を1.2.2に記した方法で処理して用いた。

2. 2. 3 カラムの調製

水中に懸濁させた樹脂200 mgをとり、Fig. 1.2に示したテフロン製カラムに充填した。カラムは、各濃縮溶離実験後は、5 mlのメタノール+濃硝酸（10+1）および20 mlの水で洗浄したのち、次の実験に用いた。沈

Table 2.1. List of Ligands Examined in This Work.

| ligand | abbreviation |
|---|--------------|
| ammonium pyrrolidinecarbodithioate | APDC |
| benzoylacetone | BA |
| dibenzylammonium dibenzylidithiocarbamate | DBADBDC |
| dibenzoylmethane | DBM |
| diphenylthiocarbazone | dithizone |
| 8-quinolinol | oxine |
| 2-nitroso-1-naphthol | NN |
| disodium 1-nitroso-2-naphthol-3,6-disulfonate | nitroso R |
| 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol | PAN |
| 4-(2-pyridylazo)resorcinol | PAR |
| 2-(2-thiazolylazo)-p-cresol | TAC |
| 2-(2-thiazolylazo)-5-(dimethylamino)phenol | TAM |
| 1-(2-thiazolylazo)-2-naphthol | TAN |
| 4-(2-thiazolylazo)resorcinol | TAR |

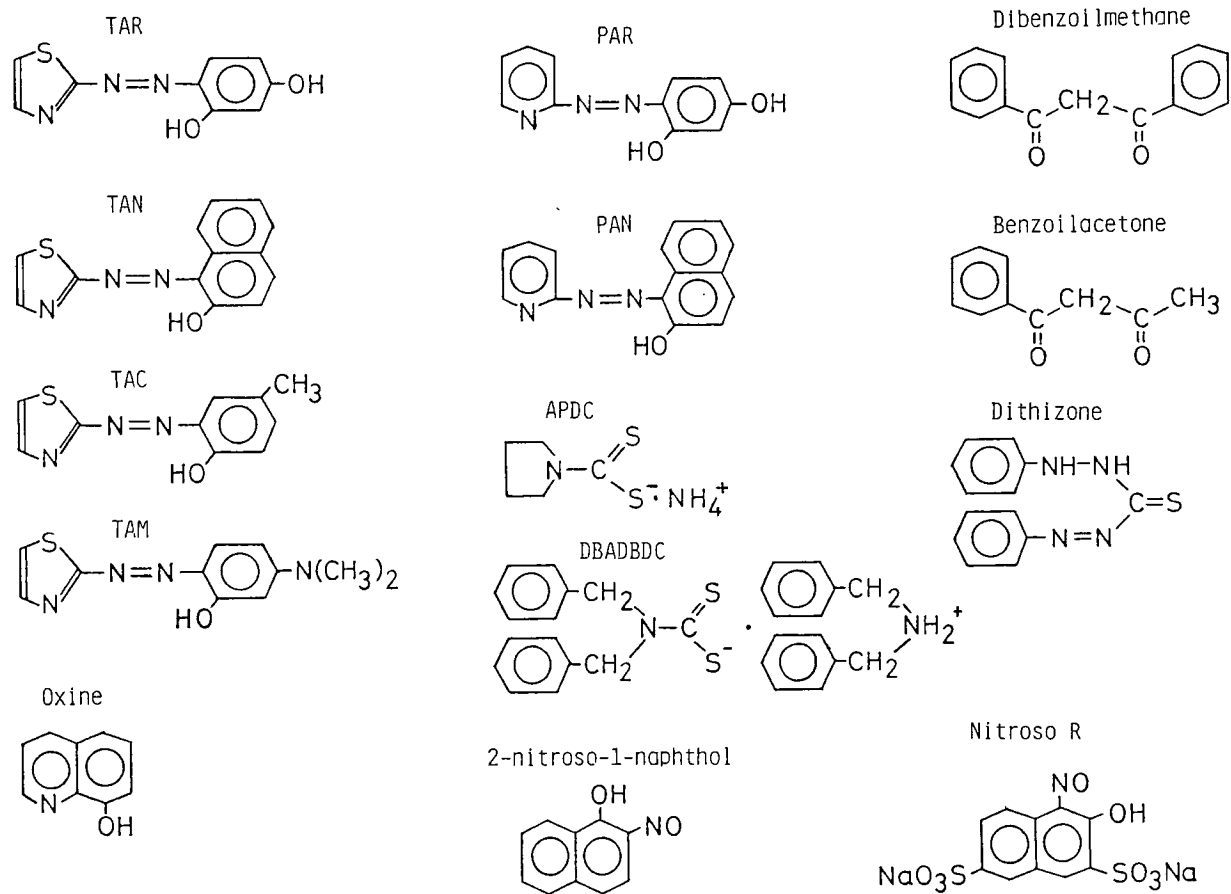


Fig.2.1. Ligands examined in this work.

澱として回収されるコバルト錯体の捕集には、テフロンフィルター（ポアサイズ： $1\ \mu\text{m}$ ）のみを充填したカラムを用いた。なお、コバルトのブレイクスルー曲線を求める実験では、内径 $2\ \text{mm}$ のテフロンチューブに $50\ \text{mg}$ のXAD樹脂を充填し両端を石英綿でとめたカラムを調製して用いた。

2. 2. 4 実験手順

カラム濃縮実験は以下の手順で行なった。

- (1) パイレックスガラス製ビーカーに $50\ \text{ml}$ の人工海水をとり、 $1.7 \times 10^{-5}\ \text{M}$ のコバルト標準溶液 $100\ \mu\text{l}$ を加え、少量の塩酸またはアンモニア水でpHを調整する。
- (2) (1)の溶液に $5.0 \times 10^{-3}\ \text{M}$ のキレート試薬溶液 $100\ \mu\text{l}$ を加え、よく攪拌して、pHが所定の値であることを確認したのち、10分間静置する。
- (3) (2)の溶液をペリスタルティックポンプ（流速： $3.0\ \text{ml}/\text{min}$ ）または水流ポンプ（流速：約 $30\ \text{ml}/\text{min}$ ）を用いてカラムに通す。
- (4) カラムに $10\ \text{ml}$ の水を通して、カラムを洗浄する。
- (5) カラムに捕集されたコバルト錯体を $5\ \text{ml}$ の溶離液（クロロホルム+メタノール（1+1））でバックフラッシュによって溶離する（流速： $3.0\ \text{ml}/\text{min}$ ）。
- (6) 溶離液を蒸発乾固し、少量の濃硝酸および濃過塩素酸を加えて湿式灰化したのち、 $5\ \text{ml}$ の $0.1\ \text{M}$ 硝酸に溶解して、コバルト量をGF AASにより定量する。

酸による溶離実験では、上記(1)～(4)までは同様で、その後 $1\ \text{M}$ 塩酸 $10\ \text{ml}$ を流速 $3.0\ \text{ml}/\text{min}$ でカラムに通し、溶出液中のコバルトを定量した。

コバルトの選択的濃縮実験では、上記手順の(3)と(4)の間で、カラムを $10\ \text{ml}$ の $1\ \text{M}$ 塩酸で洗浄した（流速： $3.0\ \text{ml}/\text{min}$ ）。

容器壁に吸着したり沈澱して容器中に残存したコバルトは、容器を5 mlの溶離液で洗浄し、その洗液を上記(6)にしたがって処理してコバルトを定量することによって求めた。

pHを変えてコバルトの抽出挙動を調べる実験では、コバルトの錯形成に関する情報を得ることが主目的であるので、コバルトの回収率は、カラムに捕集された量と容器に残存した量の和として求めた。これは、もし仮に沈澱や吸着がまったく起こらなければ容器に残存した成分はカラムに捕集されると考えられるからである。

テフロンフィルターによって捕集されるコバルト量は、コバルト濃度が $3.4 \times 10^{-8} \text{M}$ の場合と $3.4 \times 10^{-11} \text{M}$ の場合について検討した。後者の実験には ^{57}Co でラベルしたコバルト溶液を用いた。

ブレイクスルー曲線は、カラムにコバルト $1 \times 10^{-5} \text{M}$ およびTAR $5 \times 10^{-5} \text{M}$ を含む人工海水を流速 1 ml/min で通し、溶出液中のコバルトをGFASによって定量して求めた。

海水中的コバルトの定量は以下の手順で行なった。

(1') 海水500 mlをとり、アンモニア水でpHを8に調整する。

(2') TARメタノール溶液($5.0 \times 10^{-3} \text{M}$) 1 mlを加え、10分間静置する。

以下、上記(3)～(6)の手順で処理する。ただし、濃縮率を1000倍とするために、最終的に試料体積を0.5 mlとした。

2.3 結果と考察

2.3.1 種々のキレート試薬によるコバルトの抽出挙動

Fig. 2.2に種々のキレート試薬によるコバルトの回収率とpHの関係を示した。いずれのキレート試薬についても、pH 8において回収率はほぼ最大となった。TAR, PARは、極性が大きく水溶性が大きい錯体を生成するの

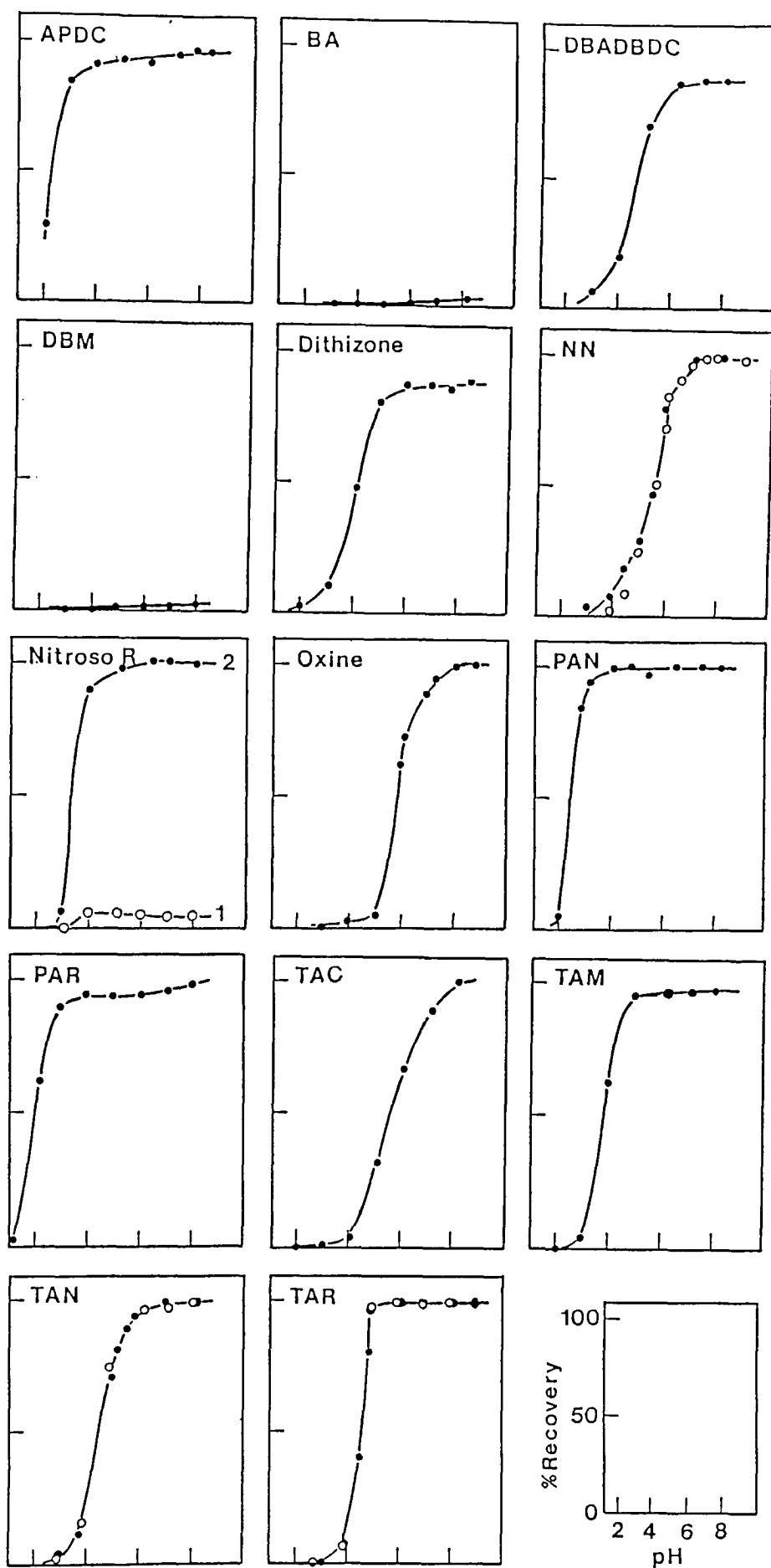


Fig.2.2. Percent recovery of cobalt as a function of pH.
Solid circle, XAD-4 resin; open circle, XAD-7 resin.
For nitroso R salt: nitroso R salt only (1); nitroso R with
Zephiramine (2).

で、溶媒抽出試薬として用いる場合には、イオン会合試薬を加えるか、イソアミルアルコールのような極性の大きな有機溶媒を用いなければならない[40]。しかし、カラム抽出では、イオン会合試薬を用いなくても、コバルト錯体は定量的に回収された。一方、強酸性のスルホン基を有するため電荷を持ち水溶性の錯体を生成するニトロソRを用いた際には、コバルト錯体はそのままではXAD樹脂にはほとんど吸着されないが、ゼフィラミン(tetradecyldimethylphenylammonium chloride)のようなイオン会合試薬を加えると、疎水性の大きな、電荷を持たないイオン会合体を生成するので、樹脂に吸着回収されるようになる。コバルトが定量的に回収されなかったキレート試薬のうち、BA、DBM、ジチゾン、DBADBD Cについては、カラムを通過した後の試料溶液の吸光度測定を行なったところ、溶出液からはこれらの試薬は検出されず、カラムに導入されたキレート試薬は定量的にカラム中に回収されていることがわかった。このことから、これらのキレート試薬は、コバルトとの錯形成定数が小さいため、試料海水中に多量に共存するアルカリ土類金属の競争的錯形成反応により、コバルトと定量的に反応しないものと考えられる。とりわけ、O₂O配位のBA、DBMは、コバルトとマグネシウム、カルシウムとの錯形成定数の差が小さいため、コバルトは全pH領域でほとんど回収されなかった。NN、TAN、TARについては、XAD-4樹脂とXAD-7樹脂との比較を行なったが、結果はFig. 2.2に示したようにほぼ一致した。

2.3.2 種々のキレート試薬による人工海水からのコバルトの回収

pH 8の人工海水にコバルトを添加して、XAD-4樹脂カラムおよびXAD-7樹脂カラムに捕集溶離されたコバルトの割合をTable 2.2に示した。

XAD-4樹脂とXAD-7樹脂とを比較すると、キレート試薬や錯体によって疎水性や極性が異なるにもかかわらず、ほとんどのキレート試薬について、

Table 2.2. Percent Recovery of Cobalt Spikes from Artificial Seawater^a.

| ligand ^b | XAD-4 | | XAD-7 | |
|-------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | 1 ^c | 2 ^d | 1 ^c | 2 ^d |
| APDC | 86 ± 6 | — | 86 ± 4 | — |
| BA | 2 ± 1 | — | < 1 | — |
| DBADBDC | 80 ± 4 | — | 79 ± 13 | — |
| DBM | 3 ± 3 | — | < 1 | — |
| dithizone | 77 ± 9 | — | 40 ± 9 | — |
| NN | 93 ± 4 | 92 | 92 ± 6 | 80 |
| nitroso R | < 1 | — | 3 ± 1 | — |
| nitroso R + Zephiramine | 84 ± 5 | 59 | 87 ± 8 | 68 |
| oxine | 98 ± 5 | 77 | 86 ± 5 | 47 |
| PAN | 82 ± 3 | 74 | 78 ± 7 | 73 |
| PAR | 96 ± 4 | 89 | 88 ± 4 | 65 |
| TAC | 95 ± 4 | 92 | 92 ± 6 | 83 |
| TAM | 97 ± 3 | 91 | 94 ± 3 | 90 |
| TAN | 90 ± 6 | 82 | 89 ± 6 | 60 |
| TAR | 100 ± 3 | 93 | 98 ± 4 | 70 |

^a Concentration of cobalt: $3.4 \times 10^{-8}\text{M}$.

^b Abbreviated. Refer to Table 2.1.

^c Flow rate: 3.0 mL/min. Mean and standard deviation for ten determinations.

^d Flow rate: ca. 30 mL/min. Single determination.

XAD-4樹脂のほうがコバルトの回収率はやや大きいか、または同じ程度であった。また、Table 2.2に示したように、流速が大きくなるとすべてのキレート試薬についてコバルトの回収率は低下したが、その低下の割合はXAD-7樹脂よりXAD-4樹脂の方が小さかった。

2.3.3 沈澱の生成と容器壁への吸着

カラム抽出法によるフロー法においては、目的元素の錯体が沈澱を生成したり容器壁に吸着してカラムに導入されないため、錯形成は定量的に行なわれているにもかかわらず回収率が低下するという問題が起こる。このことは非常に重大な問題であるにもかかわらず、従来の研究においてはあまり注意されていなかった。Table 2.3に、試料容器に残存したコバルトの割合および、テフロンフィルター上に捕集されたコバルトの割合を示した。APDC、DBADBDC、ジチゾン、NN、ニトロソR+ゼフィラミン、PAN、TANを用いた際には、かなりの量のコバルトが容器内に残存しており、また、フィルター上に沈澱として回収されるコバルトの量も多い。したがって、これらのキレート試薬を用いた場合、Table 2.2に示した回収率が定量的でないのは、水に対して不溶性のキレート試薬や錯体が溶液中で凝集して沈澱を生成し、それらが器壁へ吸着してしまうためであると考えられるが、Table 2.3に示したように、沈澱として回収されるコバルトの割合は、コバルトの濃度を1000分の1にしてもそれほど大きく変わらない。このことから、コバルト錯体自身が沈澱することよりも、沈澱したキレート試薬へコバルト錯体が共沈することが回収率の低下の主要な原因であると考えられる。水に難溶なあるいは不溶性錯体を生成するキレート試薬を用いた際の問題点として、カラム内における吸着剤への吸着が不完全であることやカラムが目づまりすることが指摘されている[18]が、ここに示した結果によれば、キレート試薬の沈澱生成がもたらすコバルト錯体の共沈や器壁吸着によって、生成した錯体がカラムへ導入

Table 2.3. Percentage Trapped by a Filter and Percentage Remaining in a Container.

| ligand ^a | filter | | container ^b |
|-------------------------|----------------|----------------|------------------------|
| | 1 ^b | 2 ^c | |
| APDC | 13 | 21 | 11 |
| BA | < 1 | < 1 | < 1 |
| DBADBDC | 22 | 31 | 10 |
| DBM | < 1 | < 1 | < 1 |
| dithizone | 29 | 12 | 10 |
| NN | 58 | 65 | 6 |
| nitroso R | < 1 | < 1 | < 1 |
| nitroso R + Zephiramine | 14 | 5 | 13 |
| oxine | < 1 | < 1 | < 1 |
| PAN | 24 | 24 | 21 |
| PAR | < 1 | < 1 | < 1 |
| TAC | < 1 | < 1 | < 1 |
| TAM | < 1 | < 1 | < 1 |
| TAN | 44 | 15 | 7 |
| TAR | < 1 | < 1 | < 1 |

^a Abbreviated. Refer to Table 2.1.

^b Concentration of cobalt: $3.4 \times 10^{-8}\text{M}$.

^c Concentration of cobalt: $3.4 \times 10^{-11}\text{M}$.

されないことの方が問題である。

一方、試料容器中に残存するコバルトの割合と沈澱として回収されるコバルトの割合との間には、明確な量的関係はない。これは、生成する沈澱の性状がキレート試薬によって異なるためである。例えば、コバルトの沈澱試薬として広く用いられているNNは、沈澱として回収される錯体の割合が検討したキレート試薬の中で最も大きいにもかかわらず、試料容器に残存する割合は小さい。

2. 3. 4 酸による溶離

カラムに捕集されたコバルト錯体が置換不活性になっているかどうかを確かめるため、酸による溶離実験を行なった。XAD-4樹脂カラムに捕集された1 M塩酸によって溶離されるコバルトの、総量に対する割合をTable 2. 4に示した。コバルトのカラム吸着率の低いBA、DBM、ニトロソRを除くと、ジチゾン、オキシソ、ニトロソR+ゼフィラミン、TAC、TANについては、1 M塩酸によってコバルトが部分的に溶離されたが、それ以外のキレート試薬については、コバルトは全く溶離されなかった。これは、前者では一部のコバルト(II)錯体が酸化されないで置換活性のままの状態では樹脂上に吸着されており、酸によって解離してコバルトが溶離されるのに対して、後者では酸化速度が速いため、ほとんどすべての錯体が置換不活性なコバルト(III)錯体になって吸着されていることによるものであると考えられる。

2. 3. 5 コバルトの選択的分離

コバルトを定量する際に、コバルトに対して特異的でない方法、例えば、吸光度法など、を用いる場合には、定量に先だって、妨害物質、特に鉄など他の重金属からコバルトを分離することが必要である。酸による溶離実験の結果からわかるように、カラムに捕集されたコバルト錯体が完全に置換不活性となるようなキレート試薬を用いれば、カラムに同時に捕集されたコバルト以外の重金属を酸で溶離することによって分離することが可能である。

Table 2.4. Percent Recovery of Cobalt with 1 M HCl as Eluent^a.

| ligand ^b | recovery ^c , % | ligand ^b | recovery ^c , % |
|-------------------------|---------------------------|---------------------|---------------------------|
| APDC | < 1 | oxine | 40 ± 2 |
| BA | < 1 | PAN | < 1 |
| DBADBDC | < 1 | PAR | < 1 |
| DBM | < 1 | TAC | 27 ± 4 |
| dithizone | 6 ± 1 | TAM | < 1 |
| NN | < 1 | TAN | 27 ± 3 |
| nitorso R | < 1 | TAR | < 1 |
| nitroso R + Zephiramine | 5 ± 3 | | |

^a Concentration of cobalt: 3.4×10^{-8} M.

^b Abbreviated. Refer to Table 2.1.

^c Mean and standard deviation for five determinations.

Fig. 2.2、Table 2.2およびTable 2.3に示した結果から、沈澱生成や器壁吸着による損失がなくしかも適当なpH領域で定量的にコバルトを回収することのできるキレート試薬は、オキシシン、PAR、TAC、TAM、TARの5種であることがわかる。この中で、TARは、定量的に捕集可能なpH範囲が最も広いキレート試薬である。さらにTable 2.4に示した結果は、カラムに捕集されたTAR錯体が酸によって全く溶離されないことを示している。以上のことから、TARがコバルトの選択的分離を行なうのに最適のキレート試薬であると結論できる。

次に、キレート試薬としてTAR、吸着剤としてXAD-4樹脂を用いて、コバルトが共存する重金属から完全に分離できるかどうかを確かめ、その結果をTable 2.5に示した。共存する重金属は酸による溶離によってほぼ満足できる程度まで除去され、コバルトは有機溶媒溶離液のフラクションに定量的に回収されている。また、海水中に多量に溶存するカルシウムやマグネシウムも、この方法によってほぼ完全に分離されている。

2.3.6 TARを用いた海水中のコバルトの回収

TARによる海水中のコバルトの回収実験を行なうに当たって、いくつかの基礎的な条件について検討した。

まず、XAD-4樹脂とXAD-7樹脂に対するコバルト-TAR錯体の吸着容量について検討した。吸着容量の測定には、バッチ法によるものとフロー法によるものがあるが、ここでは、カラム法によってコバルト錯体を回収することを目的としているので、フロー法によりブレイクスルー曲線を求め、得られた曲線から吸着容量を求めた。XAD-4樹脂、XAD-7樹脂に対するブレイクスルー曲線を、Fig. 2.3に示す。XAD-7樹脂は、試料を90 ml 通した時点で100%のブレイクスルーを示し、またブレイクスルー曲線は対称なS字型曲線になったのに対して、XAD-4樹脂は、400 ml の試

Table 2.5. Separation of Cobalt from Other Metal Ions

| Ion ^a | Recovery, % | |
|---------------------|-------------|---------------------------------------|
| | 1 M HCl | CHCl ₃ /CH ₃ OH |
| Co(II) | 0 | 100 |
| Cd(II) | 77 | 0 |
| Cr(III) | 0 | 1 |
| Cr(VI) | 0 | 2 |
| Cu(II) | 96 | 0 |
| Fe(III) | 92 | 6 |
| Mn(II) | 2 | 0 |
| Ni(II) | 97 | 0 |
| Pb(II) | 68 | 2 |
| Zn(II) | 97 | 2 |
| Ca(II) ^b | 0.06 | 0.00007 |
| Mg(II) ^c | 0.05 | 0.003 |

^a Concentration of metal spikes is 5 µg/L.

^b Contained in seawater at 9.9×10^{-3} M.

^c Contained in seawater at 5.2×10^{-2} M.

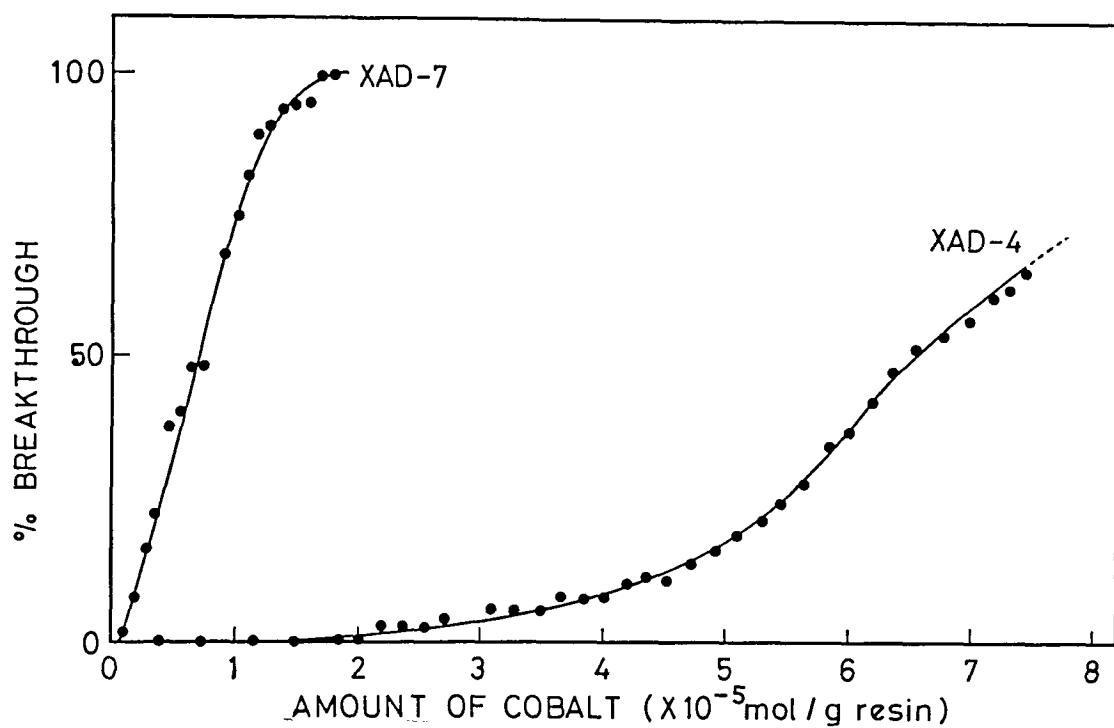


Fig.2.3. Resin capacity breakthrough curves for the cobalt(II)/TAR complex on two XAD resins.

$$C_{\text{Co}} = 1 \times 10^{-5} \text{M}, \quad C_{\text{TAR}} = 5 \times 10^{-5} \text{M}$$

料を通した時点においても100%のブレイクスルーを示さず、ブレイクスルー曲線は対称的なS字型とはならなかった。また、このとき、カラム入口付近の樹脂上にコバルト-TAR錯体が凝集して付着しているのが観察された。ブレイクスルー曲線が対称的なS字型とならなかったのは、この様に、樹脂表面に錯体が均一に吸着されず、不均一に凝集しているためであると考えられる。このXAD-4樹脂に対するブレイクスルー曲線も近似的に対称なS字型であるとみなして、両樹脂の吸着容量を計算すると、XAD-4樹脂は $6.4 \times 10^{-5} \text{ mol/g}$ 、XAD-7樹脂は $0.8 \times 10^{-5} \text{ mol/g}$ となった。Table 13に示したように、XAD-4樹脂の比表面積はXAD-7樹脂の約1.7倍であるが、吸着容量は約8倍の大きな値を示す。このことは、錯体の吸着に樹脂と錯体との疎水的な相互作用、特に芳香族環の π 電子系の相互作用が大きく影響しているためであると考えられる。2つの樹脂間での吸着容量の違いは、カラム抽出の際には、コバルトの回収率に対する試料流速の影響に大きく反映する。Fig. 2.4に示したように、XAD-4樹脂が流速を45 ml/minまで増加させても回収率があまり低下しないのに対して、XAD-7樹脂では流速10 ml/min以上で回収率が80%以下に低下した。

次に、コバルトの回収率に対するTAR濃度の影響について検討した。2種類のコバルト濃度に対する実験結果をFig. 2.5に示す。コバルト濃度が $8.5 \times 10^{-6} \text{ M}$ と高いときには、モル比法で錯体の組成を決定するときと同様な曲線が得られた。すなわち、この濃度においては、錯形成反応はほぼ定量的に進行し、コバルトとTARは1:2で錯形成している。一方、コバルト濃度が $3.4 \times 10^{-8} \text{ M}$ のときは、コバルトを定量的に回収するためには3倍量以上のTARを加えることが必要であった。これは、コバルトおよびキレート試薬の濃度が共に非常に小さいときには、錯形成反応が定量的に進行しないことを示している。

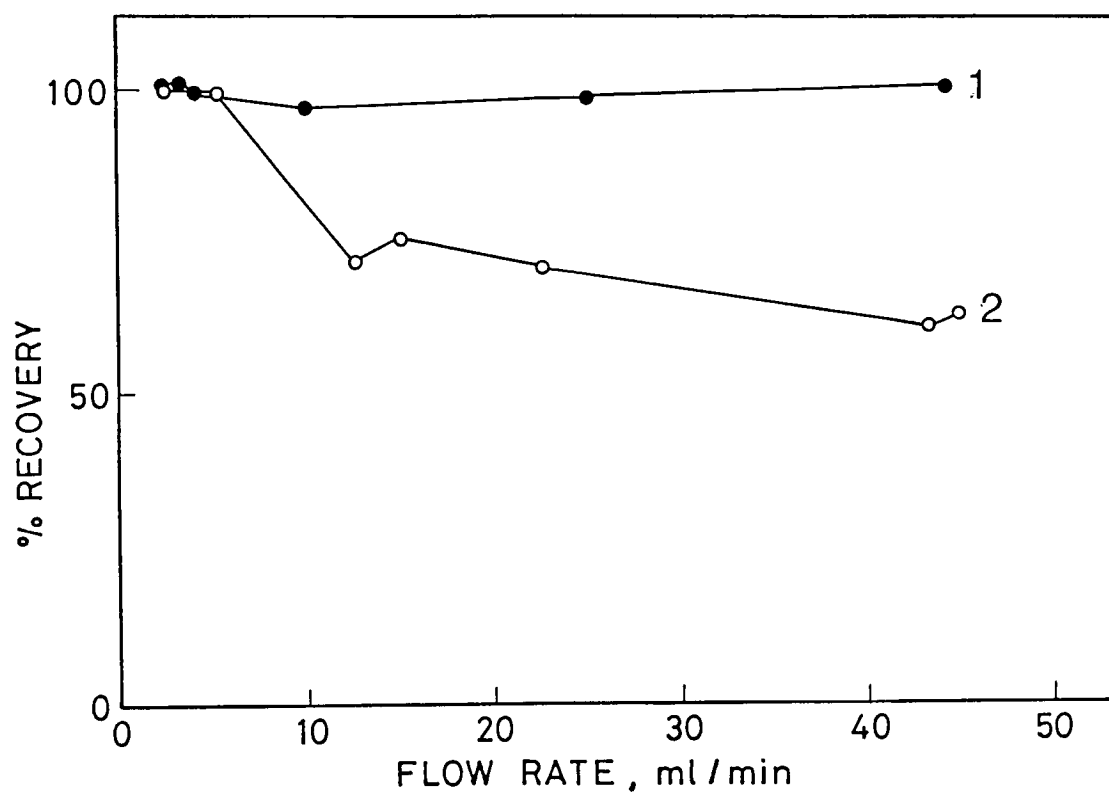


Fig.2.4. Effect of flow rate on the recovery of cobalt(II).
Concentration of cobalt(II). $3.4 \times 10^{-8}M$,
concentration of TAR, $1.0 \times 10^{-5}M$.
XAD-4 resin (1), XAD-7 resin (2).

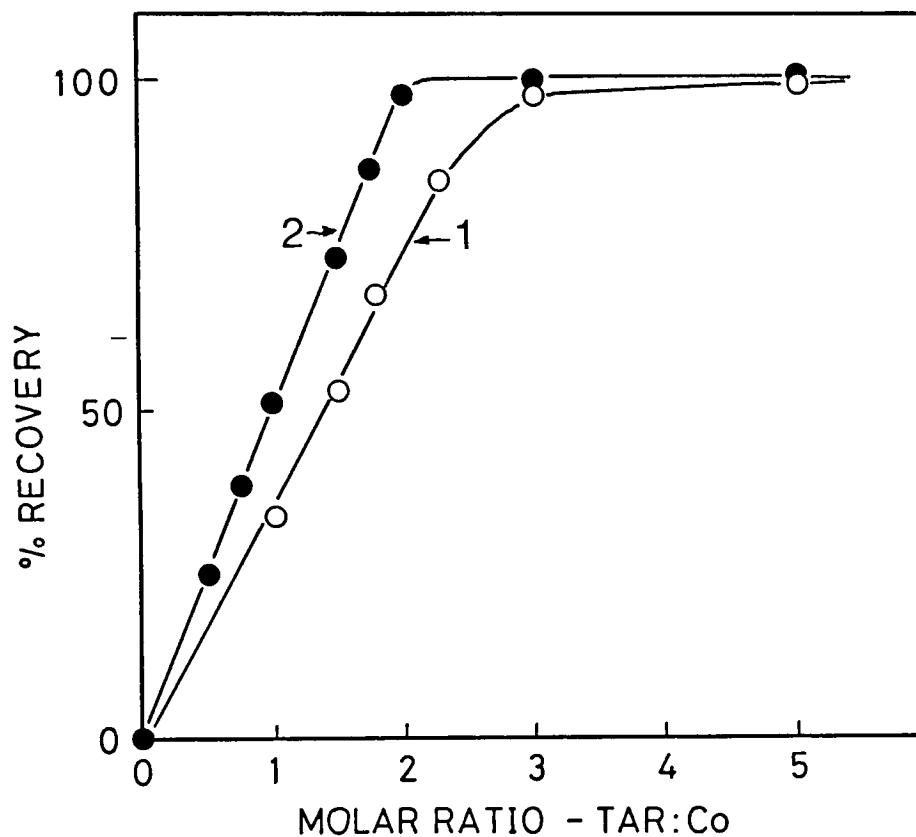


Fig.2.5. Recovery of cobalt(II) with a XAD-4 resin column with increasing molar ratios of TAR to cobalt(II). Concentration of cobalt(II): $3.4 \times 10^{-8} \text{ M}$ (1), $8.5 \times 10^{-6} \text{ M}$ (2).

2.3.7 海水試料への適用

TARおよびXAD-4樹脂カラムを用いて、海水試料中のコバルトの選択的分離濃縮を行なった。コバルトが定量的に回収されているかどうかを確認するために、一定量のコバルトを標準添加した海水についても同様の操作を行なった。結果をTable 2.6に示す。定量値が10%程度のバラつきをもっているのは、GFASの検出限界(1 ng/ml)付近で定量を行なっているためであり、精度を上げるためには、濃縮率を上げるかあるいはさらに感度のよい分析法を用いることが必要である。なお、添加した試薬によるブランク値は0.4 ngであった。ここで得られたコバルト濃度はKnauerら[41]による結果(1~7 ng/l)とほぼ一致している。

ここに示した方法で回収されるコバルトとしては、無機コバルトイオン、置換活性な錯体あるいは容易に解離する会合体の形で溶存しているもの(いわゆるlabile species)、およびXAD-4樹脂に吸着しクロロホルム+メタノールによって溶離されてくる置換不活性な溶存種が考えられるが、XAD-4樹脂を充填したカラムに試料海水を通した後、クロロホルム+メタノールをカラムに通し、溶出液中のコバルトを測定したところ、GFASでは検出されなかった。したがって、Table 2.6に示した分析値は無機コバルトイオンおよび容易に解離する錯体あるいは会合体の合計の濃度を表わしているものと考えられる。

Table 2.6. Recovery of Cobalt in Seawater.

| Co added, ng/L | Co found ^a , ng/L | Recovery, % |
|----------------|------------------------------|-------------|
| 0 | 4.6 ± 0.5 | - |
| 10 | 14.4 ± 0.4 | 98 |
| 20 | 23.7 ± 0.4 | 96 |

^a Mean and standard deviation for five determinations.

第3章 タイロンー過酸化水素反応に対する触媒作用を利用した

超微量コバルトのフロー分析

3.1 はじめに

最近、目的成分の触媒活性を利用する接触分析法が、非常に高感度な分析法として注目されている[42]。コバルト(II)は、アルカリ性溶液中での α -ジヒドロキシベンゼン誘導体の過酸化水素による酸化反応に対して非常に高い触媒活性をもつことが知られており、これまでに、タイロン (disodium 1,2-dihydroxybenzene-3,6-disulfonate) [43-49]、カテコール[50]、キニザリン[51]、キナリザリン[52]、アリザリンレッドS[53]、クロモトロブ酸[54]およびその誘導体 [55,56]、ガロシアニン[57]、ピロカテコールバイオレット[58]などを用いたコバルトの分析例が報告されている。この中では、タイロンを用いる方法はもっとも高感度であり、また、反応生成物や反応機構に関する研究も行なわれている [46,47]。

触媒活性を利用した接触分析法は、非常に高感度であるにもかかわらず、従来、マニュアル法で分析が行なわれていたため、再現性が良好でなかったり、分析操作が煩わしいなどの問題点があって、ルーチン分析に用いられることはほとんどなかった。これらの問題点は、フロー分析法を用いることによって解決することが可能である。Skeggs[59]によって開発された、空気分節を用いる連続流れ分析法 (Continuous-Flow Analysis, CFA) は、もっとも初期に確立されたフロー分析法として、臨床分析[60]や栄養塩類などの海洋化学分析[61]などに広く用いられている。近年、空気分節を用いない新しいフロー分析法として、フローインジェクション分析法 (Flow Injection Analysis, FIA) が、Ruzickaら[62]によって開発され、接触分析法への適用例もいくつか報告されている[49,54,55]。FIA法の利点の一つは、試料の流路内での滞留時間が短いため多数の試料を短時間で分析できるという点であるが、反応時間すな

わち試料の滞留時間を大きくとることが必要な反応系にF I A法を適用するためには、特別の工夫をすることが必要である。この目的で、ストップフローF I Aシステム[63]が開発されているが、この場合、単位時間あたりの試料分析数を多くするために回転式ドラムを用いる並列F I Aシステムが用いられている[64]。一方、C F A法は空気分節によって試料の拡散混合を防ぐ方式であるため、特に工夫をしなくても滞留時間を長くとることが可能である。

本研究では、C F A方式によって、タイロンー過酸化水素反応系を用いてコバルト(II)を高感度に再現性よく分析する方法について検討した。しかし、従来のC F A方式のフローシステムをこの反応系に適用した場合、吸光度の再現性や安定性を得るためには、試料溶液と試薬の混合が、通常の比色分析に適用する場合よりもさらに均一であることが必要であったので、通常のC F Aシステムにいくつかの改良を加えた。

3. 2 実験

3. 2. 1 試薬

コバルト(II)標準溶液：市販の原子吸光分析用標準溶液を適宜希釈して用いた。

タイロン溶液：ドータイト製タイロンを水に溶解して調製した。

過酸化水素水：和光純薬製原子吸光分析用過酸化水素水を適宜希釈して用いた。

その他の試薬は、すべて、市販特級品を用いた。また、水は、イオン交換水を蒸留したのち、ミリポア社製M i l l i - Qシステムで精製したものを用いた。

3. 2. 2 装置

以下に示す装置を用いた。

分光光度計：島津製作所製U V - 2 4 0。

ポンプ：テクニコン社製プロポーショニングポンプ。

オートサンプラー：テクニコン社製サンプラーII。

pHメーター：日立堀場製作所製F-7。

原子吸光分析装置：IL社製Video 12原子吸光分析装置、755黒鉛炉原子化装置およびFastac II試料自動注入装置。

3.2.3 フローシステム

種々の検討結果をもとに組み立てたフローシステムの概略をFig 3.1に示す。ポンプチューブはテクニコン社製アシッドフレックス（改質ポリ塩化ビニル）、その他の配管はすべてテフロン製である。ミキシングジョイントには、内径2 mmのテフロン製3方ジョイントを用いた。空気抜きもテフロン製で、フローセルの直前に取り付けた。フローセルは、石英製で光路長1 cm、光路径0.15 cm、セル容量18 μ lのものをを用いた。

3.3 結果と考察

3.3.1 フローシステムの検討

フローシステムに導入する試料は、微量のコバルトを扱う際の器壁吸着などによる損失を防ぐため、0.1 M塩酸酸性となるように調製した。オートサンプラー上の試料容器にいれられた試料とブランク溶液（0.1 M塩酸溶液）は、交互にフローシステムに導入される。これらの溶液は、流路内で中和されpH調整され、反応試薬と混合される。通常のCFA方式は、流路に導入した試料溶液を空気分節した後、試薬を合流、混合させる方式であるが、本報における反応系でこの方式を用いると、空気分節に同期して異常なピークが吸光度信号上に現れた。これは、支流から合流した試薬が試料分節だけでなく空気分節にも入り、この部分にある試薬が試料分節に均一に混合しないためである。また、各試料分節の体積や空気分節の体積が厳密には一定でないため、各試料分節中のpHや試薬濃度が一定値にならないため、吸光度信号のベースラインが分節

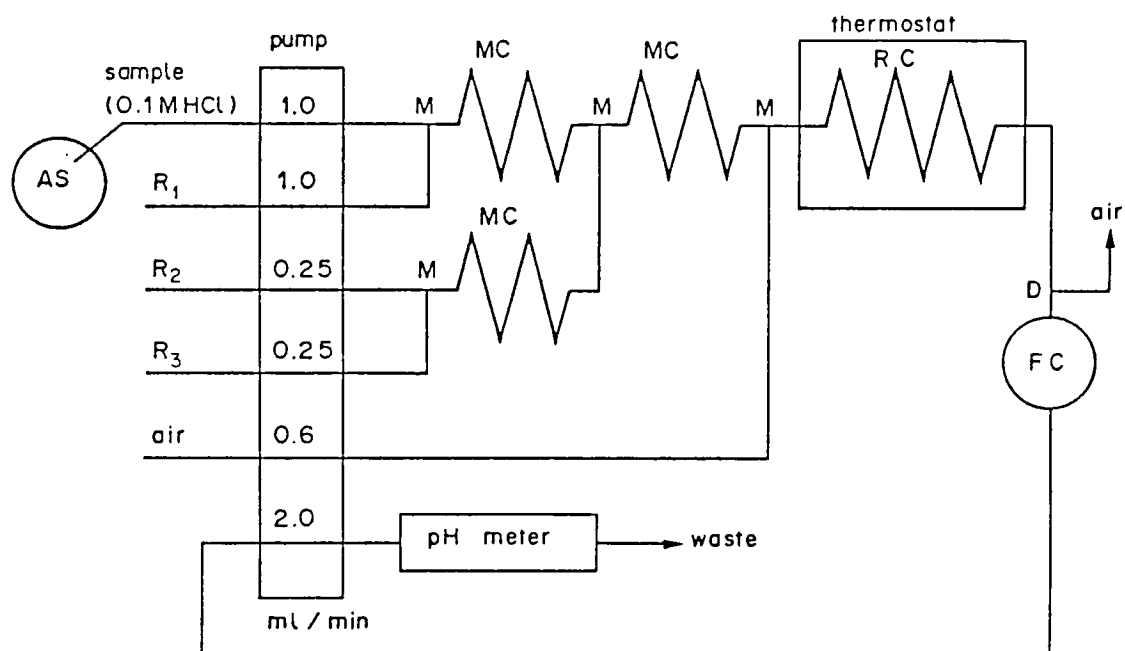


Fig.3.1. Schematic diagram of the improved continuous-flow system for the catalytic determination of Co(II).

AS: automatic sampler

MC: mixing coil (1 mm bore X 0.5 m, Teflon)

RC: reaction coil (1 mm bore X 12 m, Teflon)

M : mixing joint (Teflon)

FC: flow-cell (volume 18 ul, quartz)

D : debubbling unit (Teflon)

R₁: 0.05 M sodium carbonate-sodium bicarbonate
/0.1 M sodium hydroxide

R₂: 0.01 M tiron

R₃: 0.005 M H₂O₂

に同期して小さく変動した。したがって、本システムでは、試薬の混合比が一定の割合になるように、すべての試薬を合流させたのちに空気による分節を行なって、滞留時間の長い反応コイル内での試料ゾーンの拡散混合を抑える方式とした。また、空気分節前の段階での試料とブランク溶液との拡散混合を避けるために、試料導入時に試料とブランク溶液を小さな1個の気泡で分離した。さらに、従来のCFA方式で用いられているガラス製のチューブやミキサーを用いると、試薬の器壁への吸着によって、再現性のよい吸光度信号が得られなかったが、チューブやミキサーをすべてテフロン製とすることによって改善された。以上の検討により、最終的にFig. 3-1に示したフローシステムを設定した。

このシステムにおける試料ゾーンの分散に対する空気分節の効果を、色素溶液を用いて確認した。全システムの分散度、 D 、は次式で定義される。

$$D = A_0 / A$$

ここで、 A_0 は定常状態における吸光度、 A は一定時間試料を導入したときの、ピーク高さである。サンプリング時間を30秒とした場合、まったく空気分節を行なわない条件では（すなわち、FIA方式） D は2.45、反応コイル内のみ空気分節したときには、 D は1.40であった。試料とブランク溶液の間を小さな気泡で区切り、反応コイル内も空気分節したとき（すなわち最終的に用いたシステム）については、 D は1.25であった。さらに、サンプリング時間を60秒にすれば、 D はほぼ1となった。

3.3.2 反応系の検討

タイロンは、アルカリ性水溶液中で、過酸化水素などの酸化剤によって酸化されて黄色の化合物を生成する[65]が、コバルト(II)イオンが共存すると、その酸化速度は著しく速くなる。この反応機構の詳細は明らかではないが、Ottoら[46]はESRスペクトルの解析から、反応生成物は数時間安定なセミキノ

ラジカルであろうと推定している。Fig. 3.2にこの反応生成物の吸収スペクトルを示す。タイロンの酸化生成物は440 nm付近に極大吸収をもつが、この波長はFig. 3.3に示したように、反応溶液のpHの増加と共に低波長側に移動する。これは、440 nmに極大吸収を持つラジカル (Fig. 3.4 a) と426 nmに極大吸収を持つラジカル (Fig. 3.4 b) が生成し、pHが高くなるほど後者が生成する割合が大きくなるためであると説明されている[46]。Fig. 3.2に示した差スペクトルによれば、336 nmにも酸化物の生成による吸光度の増加が見られる。Kucharkovskiら[45]はこの波長を用いてコバルトを定量しているが、本研究で用いたフローシステムでこの2波長を比較したところ、336 nmを用いると感度は440 nmを用いるときの約2倍となるが、吸光度信号のベースラインが安定せず再現性の良いピークが得られなかった。また、440 nm付近の吸収極大は非常にピーク幅が広いので、440 nmにおける吸光度は、pH変化にともなう極大吸収波長の変化の影響をほとんど受けなかった。したがって、ここでは測定波長を440 nmとした。

pHの影響：まず用いる緩衝溶液について検討した。緩衝溶液をまったく用いない場合、および、リン酸緩衝溶液を用いた場合には、pH 11付近のpH安定性が悪いため吸光度の再現性が確保できなかった。アンモニアおよびホウ酸緩衝溶液を用いた際には、アンモニアやホウ酸がTable 3.2に示したようにコバルトの定量に対して顕著な負の干渉を起こした。一方、炭酸緩衝溶液は、全炭酸濃度が0.05 M以下のときはコバルトの定量をほとんど妨害せず、また、濃度が0.05 MのときpH 11前後でのpH安定性が ± 0.05 と良好であった。したがって、以後の検討では炭酸緩衝溶液を用いた。Fig. 3.5に吸光度に対するpHの影響を示した。最適pHの値は、これまで10.3から11が報告されているが[43-45, 48, 49]、本研究ではpH 11.2となった。

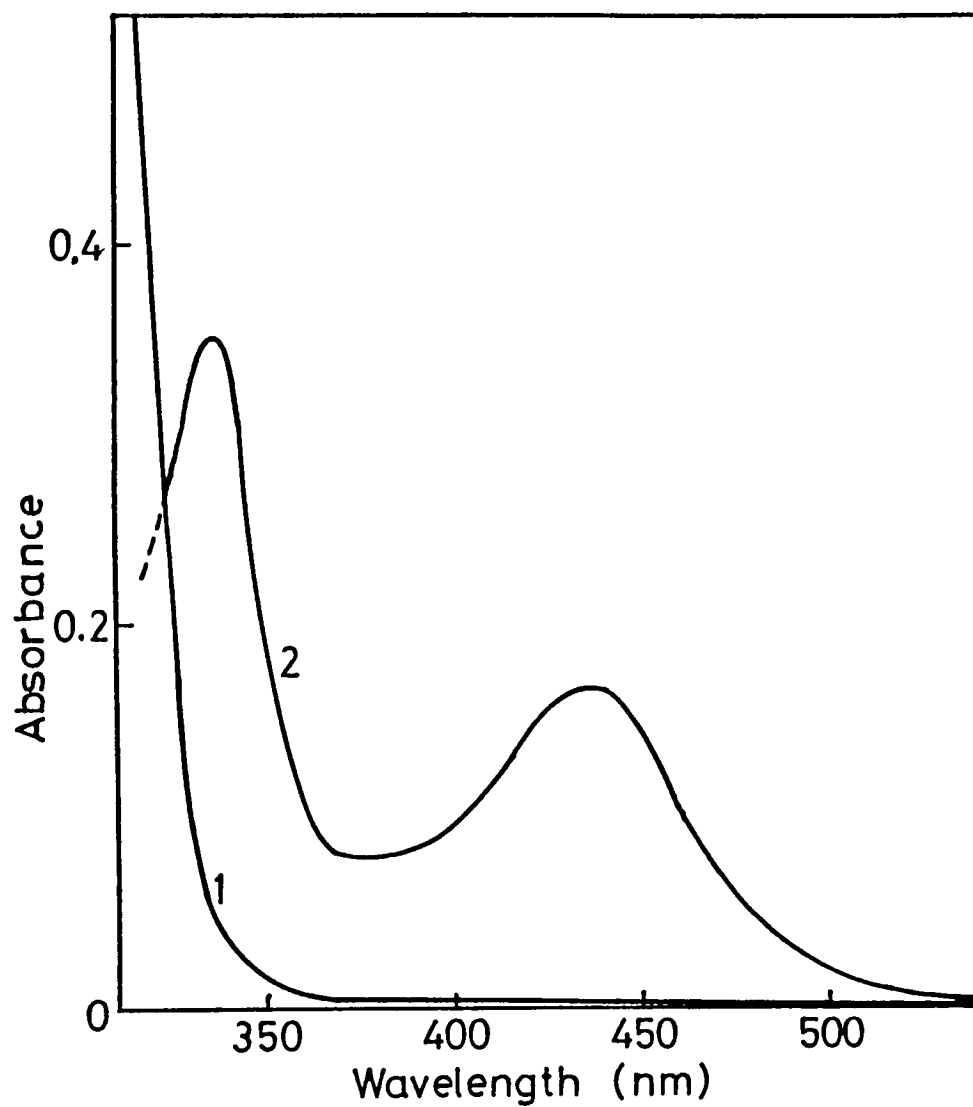


Fig.3.2. Absorption spectra of tiron oxidized in basic medium (pH 10.5).

(1) Spectrum of a solution without Co(II), measured against water.

(2) Spectrum of a solution containing 100pg/ml of Co(II), measured against a solution without Co(II).

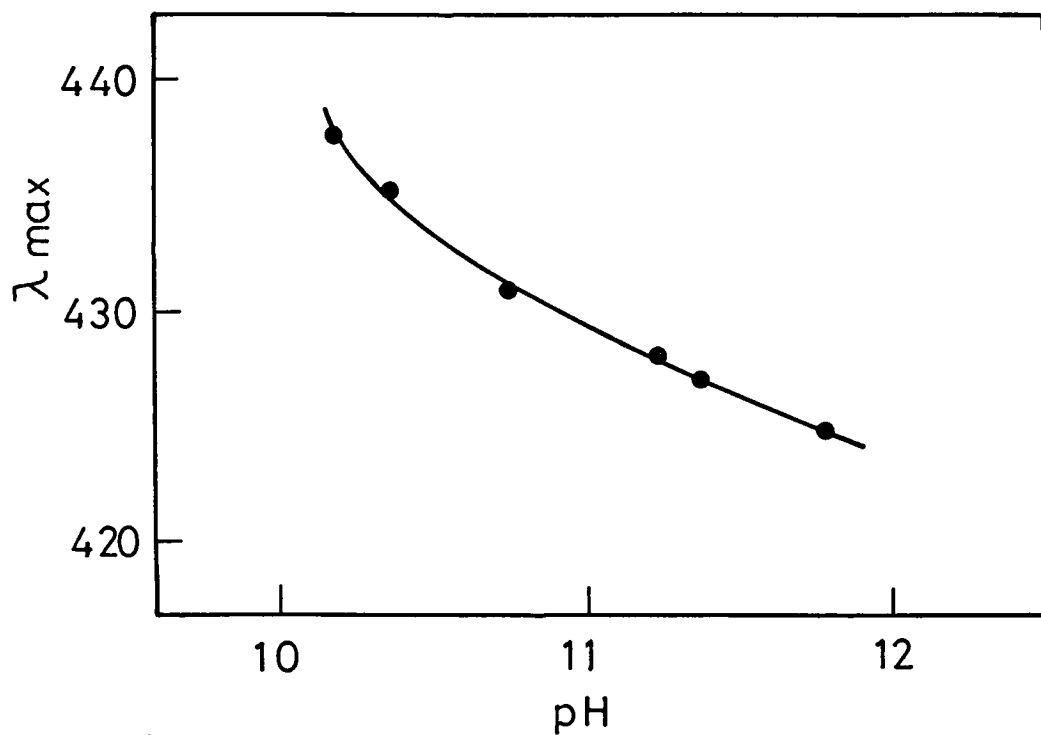


Fig.3.3. Effect of pH on λ_{\max}

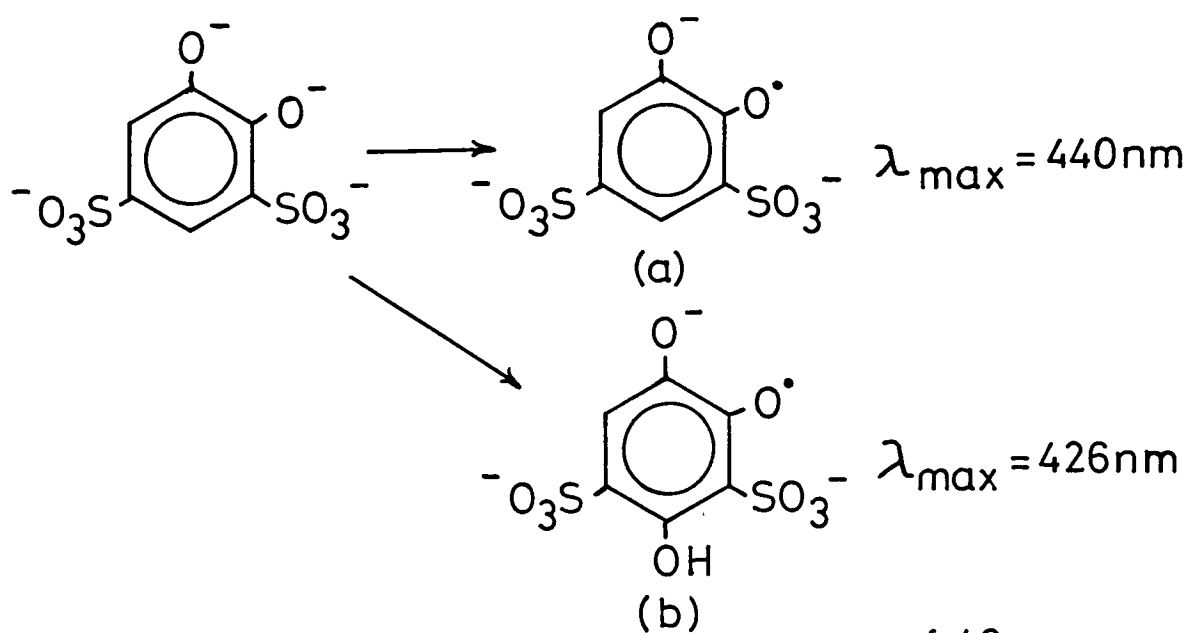


Fig.3.4, Proposed Tiron Radicals ref.46

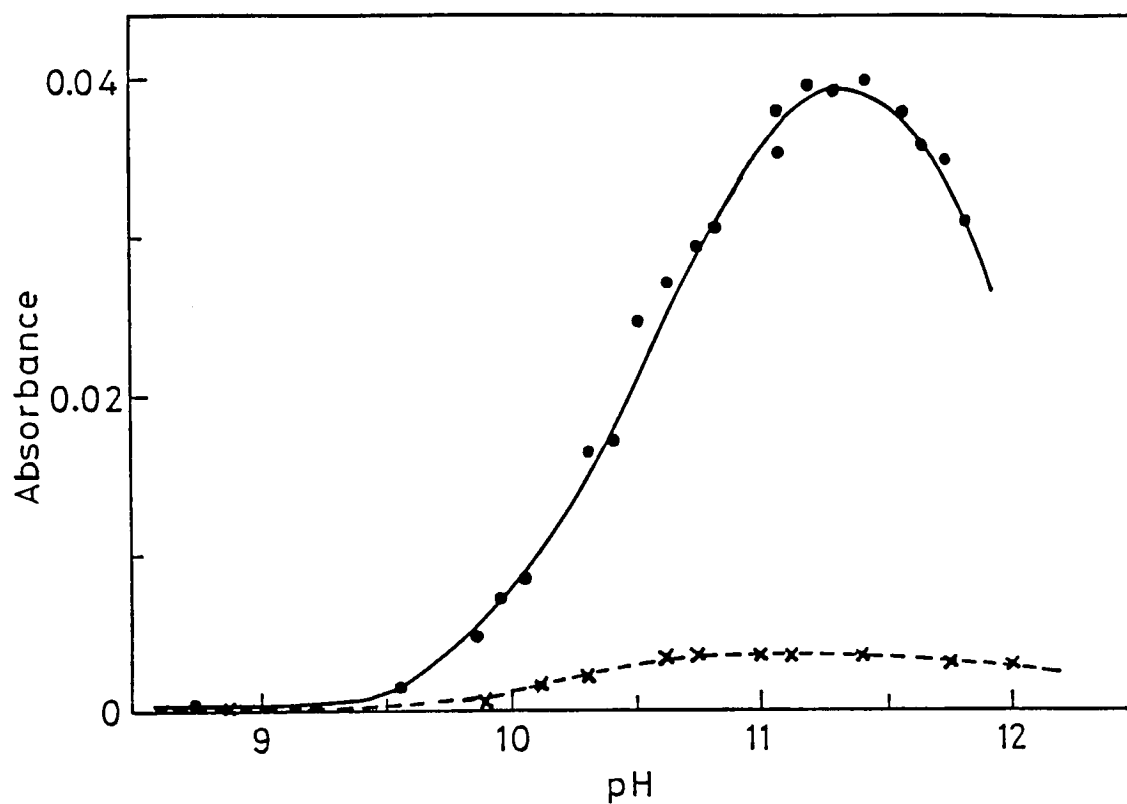


Fig.3.5. Effect of pH on the absorbance.

Solid lines, with cobalt(II) at the concentration of 100 pg/ml;
broken lines, without cobalt(II).

Co 100 pg/ml, tiron 0.01 M, H_2O_2 0.005 M.

試薬濃度の影響：一般に、接触反応の反応速度は反応試薬の濃度変化の影響を大きく受けるため、再現性を良好に保つためには試薬濃度を正確に一定に保つことが必要である。しかし、この系においてはタイロン、過酸化水素の最適濃度はそれぞれ0.010 Mおよび0.005 Mとなり、またそれぞれ0.010 M～0.015 Mおよび0.004～0.007 Mの範囲では試薬の濃度変化に対する吸光度変化は非常に小さかった。以後の実験は、タイロン濃度を0.01 M、過酸化水素濃度を0.005 Mとして行なった。

反応時間および反応温度の影響：この反応系においては、タイロンの酸化生成物による吸収は、時間の経過と共に増大するが、ある時間を過ぎると減少しはじめ、最終的には無色になる。これは、タイロンの酸化生成物が過酸化水素によってさらに酸化されて、無色の化合物になるためであると考えられる[47]。Fig. 3.6 に反応コイルの長さおよび恒温槽の温度を変えたときの吸光度変化を示す。吸光度は、反応時間が210秒で反応温度が30度のときに最大となった。また、恒温槽の温度を40度以上に上げると、感度、再現性がともに低下した。なお、この実験では、温度変化によるpH変化については考慮しなかった。

3.3.3 検量線、感度、再現性

一般に、接触法による分析では、目的物質の濃度に対して直線性のある応答値を得るためには吸光度の時間変化率を求めなければならない場合が多いが、この操作はきわめて煩雑である。しかし、この反応系では、試薬混合後一定時間が経過したときの吸光度は、Fig. 3.7 に示したように、5 pg/ml から500 pg/ml の範囲でコバルトの濃度に対してよい直線性を示した。コバルトの濃度が大きくなると検量線が直線からはずれるが、これは、未反応のタイロンの濃度変化が無視できなくなるため、反応がタイロン濃度に関して0次とみなせなくなるためである。例えば、タイロンの酸化生成物のモル吸光係

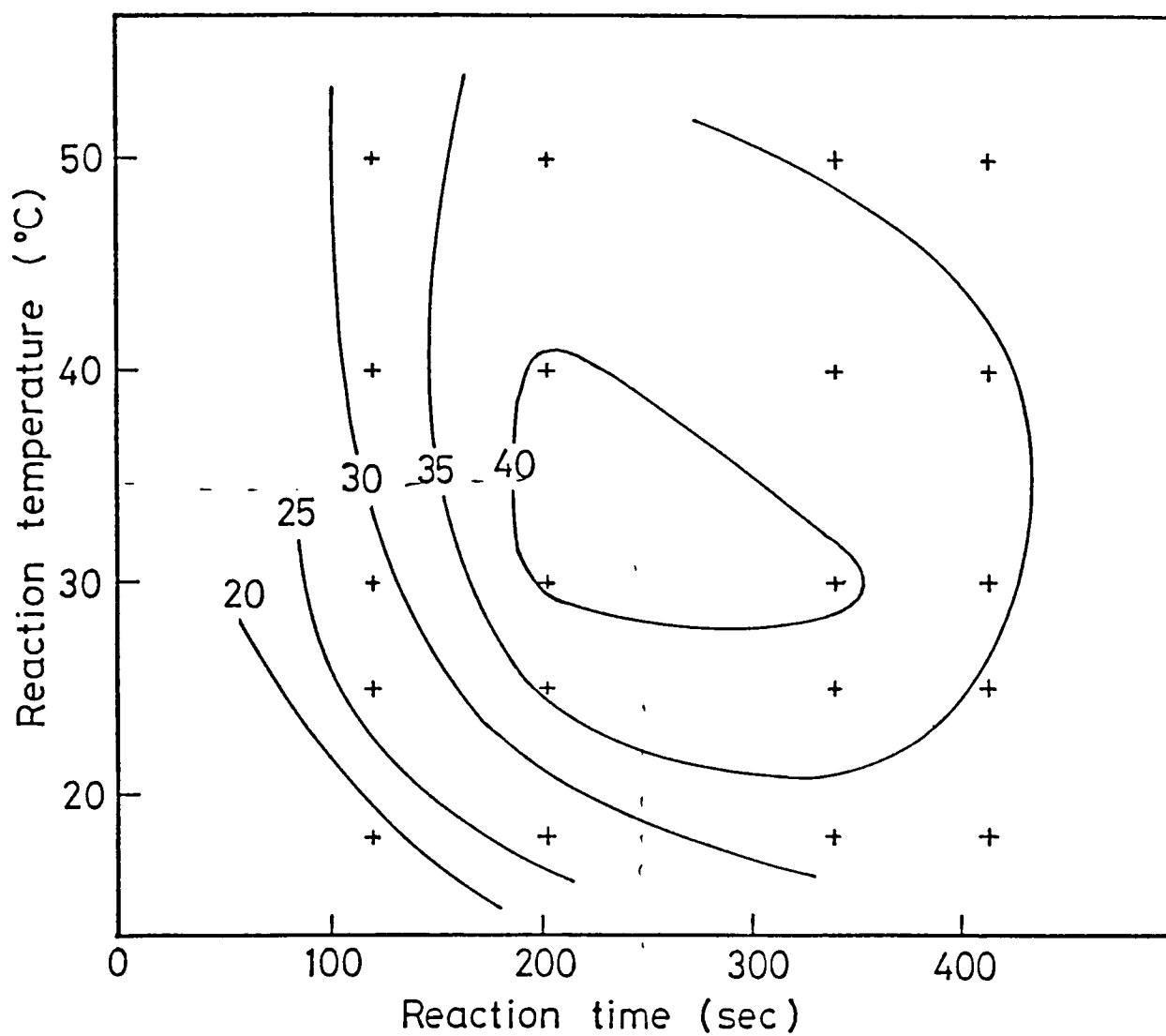


Fig. 3.6. Responce surface of absorbance as a function of reaction time and temperature.

The numbers indicate absorbance ($\times 10^{-3}$).
 Cobalt(II) 100 pg/ml, pH 11.0 (at 18°C),
 tiron 0.01 M, H_2O_2 0.005 M.

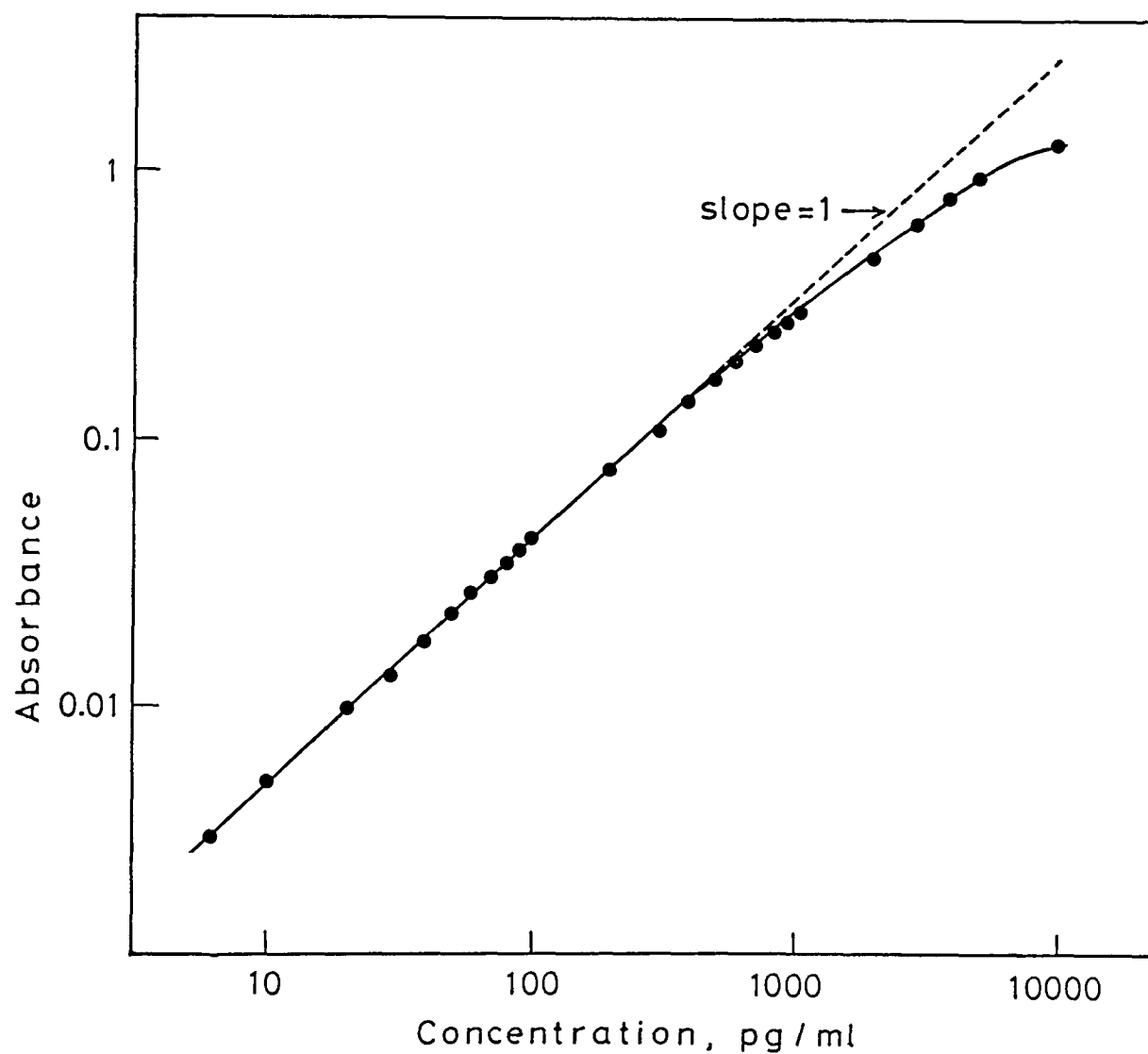


Fig.3.7. Calibration curve.
pH 11.2, tiron 0.01 M, H_2O_2 0.005 M,
reaction time 210 sec, reaction temperature 30°C.

数を3500 [45]とすると、コバルト濃度が5000 pg/mlのとき、加えたタイロンの約28%が反応して消費されていることになる。

検出限界は、加える試薬、特に水酸化ナトリウムおよび炭酸ナトリウム中に不純物として含まれているコバルトによるバックグラウンド吸収の変動によって決定される。本システムで得られたバックグラウンド吸収の大きさは、サンプル中のコバルト濃度に換算して約10 pg/mlであったが、このバックグラウンド吸収によるベースラインの変動は、数時間システムを稼動しても0.0005 Abs.以内であった。検出限界を、ベースラインの変動の3倍の信号強度を与える濃度として計算すると、3 pg/mlとなった。また、フローセル内では試料溶液が緩衝溶液と試薬溶液によって2.5倍に希釈されていることを考慮にいて、コバルトに対するみかけのモル吸光係数を検量線の直線部分の傾きから計算すると、 6×10^7 となる。タイロンー過酸化水素反応系を用いたこれまでの研究によれば、マニュアル法では、600 pg/ml (336 nmにおける吸光度の時間変化から) [45]、50 pg/ml (440 nm、試薬を混合してから10分後の吸光度の測定) [48]が報告されている。また、オンラインカラム濃縮を併用したFIA法で2 pg/ml (440 nm) [49]が報告されている。ここで得られた検出限界は、オンライン濃縮法を別にすれば、これらに優っている。

このシステムで得られる吸光度信号の一例を、Fig 38に示す。各試料のサンプリング時間を60秒とし、サンプリング間隔を30秒とすると、定量に必要な試料量は1 mlとなり、分析速度は40試料/時間となる。この条件で吸光度の再現性を検討したところ、10回分析における変動係数は、コバルト濃度が100 pg/mlおよび10 pg/mlのときそれぞれ1%および3%となった。一方、マニュアル分析では1000 pg/mlにおける変動係数は6%となり、フローシステムによって再現性は改善されている。

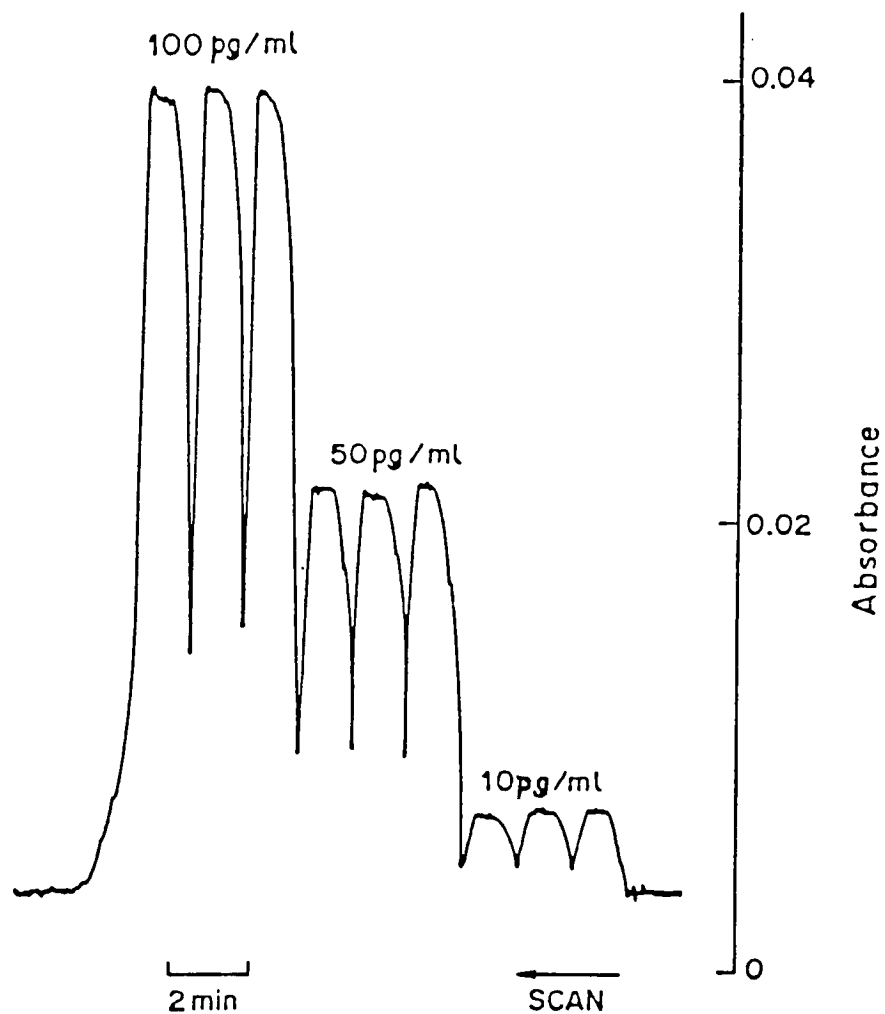


Fig.3.8. Typical signal traces for various concentrations of cobalt(II).

Sampling time 60 sec, sampling interval 30 sec,
 pH 11.2, tiron 0.01 M, H_2O_2 0.005 M,
 reaction time 210 sec, reaction temperature 30°C.

Table 3.1 に原子スペクトル分析法と本法を比較した結果を示す。ここでは、試料溶液中にコバルトが 5 ng/l 含まれているとして、これをそれぞれの検出限界の 10 倍の濃度に濃縮して定量する場合に必要な試料量を、それぞれの分析法で分析する際に必要な供試溶液量から計算した。

3.3.4 共存物質の影響

ブランク溶液と 100 pg/ml のコバルト溶液に種々のイオンを加えて、コバルトの定量に対する影響を調べた。なお、陽イオンは塩化物塩として、陰イオンはナトリウム塩として加えた。結果を Fig. 3.9 および Table 3.2 に示す。共存物質の影響は 3 つの型に分類できた。第一の型 (タイプ a) は、コバルトの触媒作用を抑制し、負の干渉をあたえるものである。この型の干渉をするイオンの例としてマグネシウム(II)の場合を Fig. 3.9 (a) に示した。第二の型 (タイプ b) は、タイロンと反応して発色する場合やコバルトと同じように触媒作用を持つ場合で、このときは正の干渉をあたえる。Fig. 3.9 (b) には例として鉄(III) の場合を示した。鉄(III) は、試薬中に不純物として含まれていたりまた外部からの汚染によって、フローシステム内に混入する可能性の高いイオンである。鉄(III) は触媒作用はまったくもっていないが、タイロンと錯形成して深赤色の錯体を生成するためこの型の干渉を示す。一方、マンガン(II)やニッケル(II)は触媒作用をもっているが[47]、その機能はコバルトに比べるとはるかに小さい。第三の型 (タイプ c) は、コバルトの触媒作用を活性化する場合で、正の干渉をあたえるものである。カルシウム(II)は、Fig. 3.9 (c) に示したように、濃度が $2 \times 10^{-6} \text{ M}$ から 10^{-3} M のとき、この型の干渉をあたえ、 10^{-3} M 以上ではタイプ A の干渉をあたえる。コバルトの触媒反応で無機イオンが増感効果を示す例としては、ガロシアニンー過酸化水素系におけるマグネシウム(II)の効果が報告されているが[57]、これらがどのような機構によるものであるのかは不明である。さらに、いくつ

Table 3.1. Comparison of various method for the determination of cobalt.

| method | detection limit pg/ml | sample volume ^a ml | sample required ^b ml |
|---------------------------------|--------------------------|----------------------------------|------------------------------------|
| GFAAS ^c | 1000 | 0.5 | 1000 |
| ICP AES ^d | 2500 | 2.0 | 10000 |
| catalytic method (this work) | 3 | 1.0 | 6 |

^a The sample volume required to determine Co with each method directly.

^b The required volume of the sample before preconcentration of Co.
Further explanation is given in the text.

^c Graphite furnace atomic absorption spectrometry.

^d Inductively-coupled plasma atomic emission spectrometry.

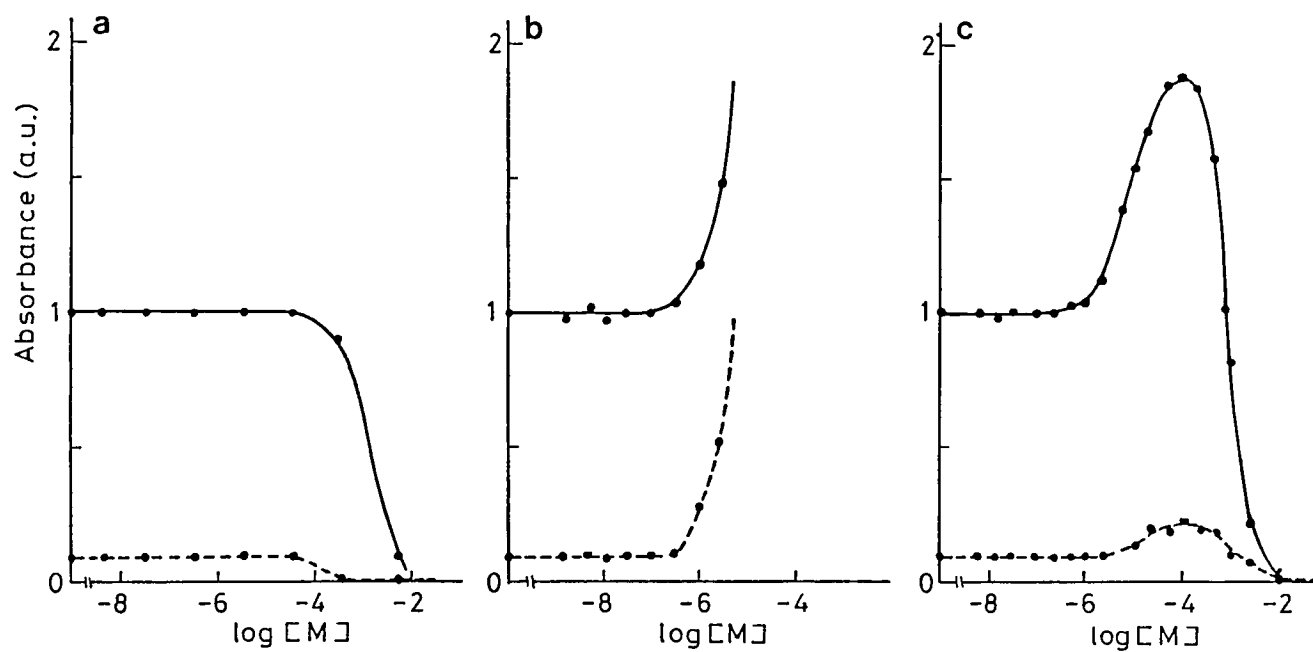


Fig.3.9. Typical interference curves in the catalytic determination of cobalt(II).
 (a) Effect of magnesium(II), (b) effect of iron(III),
 (c) effect of calcium(II).

Table 3.2. Interference levels of foreign species in the catalytic determination of cobalt(II) at 100 pg/ml (1.69×10^{-9} M) level.

| Tolerance concentration ^b | | | Tolerance concentration | | | | | | |
|--------------------------------------|-------------------|----------------------|-------------------------|--|-------------|------|----------------------|--|--|
| Ion | Type ^a | M | | | Ion | Type | M | | |
| | | | | | | | | | |
| Al(III) | A | 5 X 10 ⁻⁶ | | | ammonia | A | 5 X 10 ⁻⁴ | | |
| Ca(II) | C | 2 X 10 ⁻⁶ | | | borate | A | 1 X 10 ⁻³ | | |
| Cr(III) | B | 1 X 10 ⁻⁶ | | | citrate | A | 1 X 10 ⁻³ | | |
| Cr(VI) | B | 1 X 10 ⁻⁵ | | | EDTA | A | 1 X 10 ⁻⁷ | | |
| Cu(II) | B | 1 X 10 ⁻⁵ | | | fluoride | B | 1 X 10 ⁻² | | |
| Fe(II) | B | 2 X 10 ⁻⁶ | | | nitrate | A | 1 X 10 ⁻¹ | | |
| Fe(III) | B | 5 X 10 ⁻⁷ | | | nitrite | A | 5 X 10 ⁻⁴ | | |
| Mg(II) | A | 5 X 10 ⁻⁴ | | | perchlorate | A | 1 X 10 ⁻¹ | | |
| Mn(II) | B | 2 X 10 ⁻⁷ | | | phosphate | A | 5 X 10 ⁻² | | |
| Mo(VI) | - | c | | | silicate | A | 5 X 10 ⁻⁶ | | |
| Ni(II) | C | 1 X 10 ⁻⁶ | | | sulphate | A | 1 X 10 ⁻¹ | | |
| Pb(II) | - | c | | | tartarate | A | 1 X 10 ⁻² | | |
| Sr(II) | A | 1 X 10 ⁻⁵ | | | | | | | |
| Ti(IV) | B | 2 X 10 ⁻⁵ | | | | | | | |
| V(IV) | B | 2 X 10 ⁻⁵ | | | | | | | |
| V(V) | - | c | | | | | | | |
| Zn(II) | A | 5 X 10 ⁻⁶ | | | | | | | |

a: Interference type indicated in Fig.3.9..

b: The concentration where the 10 % deviation is given.

c: No effect at the concentration of 2×10^{-4} M.

かの協同効果も見られた。たとえば、亜鉛(II)は単独では負の干渉を与えたが、カルシウム(II)が共存すると増感効果をもたらした。Table 3.2に共存物質の影響をまとめた。ここでは、許容濃度を、100 pg/mlのコバルトに対して10%の干渉をあたえる濃度として定義した。

3.3.5 精製水中および海水中的コバルトの分析

本法を精製水中および海水中的コバルトの分析に適用した。精製水については、100 mlの蒸留水またはMilli-Qシステムで精製した超純水を蒸発乾固し1 mlの0.1 M塩酸に溶解したものを供試溶液とした。海水試料は、1984年3月に気象庁観測船凌風丸の相模湾試験航海で、station 2 (35°10'N, 139°19'E)において採水し、採水後すみやかにヌクレポアフィルター（ポアサイズ：0.4 μm）によってろ過し、塩酸を加えてpHを3とし、ポリエチレン瓶にに入れて保存したものをを用いた。これを実験室に持ち帰り、第2章で述べた方法を用いて、コバルトを選択的に分離濃縮し、湿式灰化した後0.1 M塩酸に溶解した。濃縮率は、10倍（フロー分析用）または100倍（GF AAS用）とした。また、接触法によるフロー分析では、最終的に得られた試料に一定量のコバルトを標準添加して、タイプAとタイプCの干渉がないことを確認し、過酸化水素水を水に置き換えることによって、タイプBの干渉がないことを確認した。分析結果をTable 3.3に示す。測定の再現性は、フロー分析は約3%（n=3）、GF AASは約10%（n=5）であった。このバラツキの大きさを考慮すると、Table 3.3に示した値は満足できる程度に一致しているといえる。

Table 3.3. Determination of cobalt in various waters

| Sample | Cobalt found | |
|-----------------------------|--------------------------|-----------------|
| | Catalytic method ng/l | GFAAS ng/l |
| Distilled water | 5.0 | 5.1 |
| Purified water ^a | 0.35 | ND ^b |
| Seawater Depth 0 m | 1.7 | 1.3 |
| 50 m | 3.4 | 3.1 |
| 100 m | 5.3 | 5.8 |

a Purified with a Millipore Milli-Q system.

b Not determined.

第4章 まとめ

カラム抽出法が簡便で効率のよい濃縮法であることに着目し、この方法を用いて海水中の微量金属を濃縮分離するための検討を行なった。また、触媒活性を用いた分析法が、一般に高感度定量法として用いられている黒鉛炉原子吸光分析法（GF AAS）よりもはるかに高感度であることに着目し、フロー分析法を用いて、再現性よく高感度に定量する方法について検討を行なった。その結果、次の結論を得た。

第一に、オキシニ誘導体である7-ドデセニル-8-キノリノール（DDQ）をスチレン-ジビニルベンゼン共重合体を骨格とする合成吸着剤（アンバーライトXAD-4樹脂）に担持させた樹脂を充填したカラムによって、アルミニウム、ビスマス、カドミウム、銅、鉄、ガリウム、マンガン、ニッケル、鉛、チタンの10種類の微量元素がpH8の海水から定量的に捕集されることを明らかにした。また、捕集された微量元素は酸によってカラムから容易に溶離され、GF AAS法などによって定量できることを明らかにした。さらに、DDQがXAD-4樹脂に疎水的に強く吸着しているため、この樹脂は繰り返し使用が可能であり、この樹脂を用いるカラム抽出法が観測船上などにおいて海水中の微量元素を迅速に同時濃縮する方法として非常に有効であることを明らかにした。

第二に、上記の方法では定量的に回収できなかった元素の中で、コバルトについては、あらかじめ海水試料中でキレート試薬と錯形成させたのちに合成吸着剤を充填したカラムで捕集し、有機溶媒によって溶離する方法により定量的に回収する方法を確立した。また、カラムに捕集されたコバルト錯体が置換不活性な3価の状態になっていることを利用して、有機溶媒で溶離する前に酸を用いて他の元素の錯体を解離させ溶離することによって、コバルトを選択的に濃縮分離できることを明らかにした。この場合、用いるキレート試薬は適度に

水溶性があり沈澱生成しないこと、カラムに捕集されたコバルト錯体が定量的に置換不活性な錯体となっていることが必要であり、検討した14種類のキレート試薬の中ではTARが最適であることを見いだした。また、合成吸着剤としてはXAD-4樹脂がもっとも効率がよいことが明らかとなった。

第三に、コバルトが海水中の代表的な微量元素の中では特に低濃度であり、GFAS法を用いても精度よく定量するには、かなり大量の試料を必要とすることから、タイロンの過酸化水素による酸化反応に対するコバルト(II)の触媒作用を利用して pg/ml レベルのコバルトを定量する方法を開発した。反応条件の最適化を行なうと共に、種々の改良を加えたフローシステムを用いることによって、再現性よく高感度にコバルトを定量できることを明らかにした。この方法の検出限界は 3 pg/ml で、GFAS法の約300倍の感度である。また、上記のカラム抽出法を用いて他の元素から分離することによって、海水中のコバルトを定量できることを明らかにした。

さらにこれらの方法によって海水試料の分析を行ない、カドミウム、銅、マンガン、ニッケル、およびコバルトについて、最近の報告値と矛盾しない満足すべき結果を得た。

謝 辞

本研究を行なうにあたり、御指導と暖かい励ましをいただきました京都大学教授波多野博行先生、同助教授桑本融先生に深く感謝します。また、日常の研究指導をはじめ甚大な援助、御指導をいただきました京都大学理学部附属機器分析センター助手中山英一郎先生に深く感謝の意を表します。日々の実験や討論を通じて多くの協力、援助をいただきました分析化学研究室の皆様には感謝します。

海水試料の採取にあたって御協力いただきました東京大学海洋研究所の皆様、広島大学教授坪田博行先生、気象庁の研究員の皆様には感謝します。

最後に、講義、研究指導等を通じて私を分析化学の研究分野へ導いて下さった京都大学名誉教授藤永太一郎先生に感謝の意を表します。

1986年12月20日

LITERATURE CITED

- (1) Leyden, D. E.; Wegscheider, W. Anal. Chem. **1981**, 53, 1059A.
- (2) Bachmann, K. CRC Crit. Rev. Anal. Chem. **1981**, 12, 1.
- (3) Sahni, S. K.; Reedijk, J. Coord. Chem. Rev. **1984**, 59, 1.
- (4) Sturgeon, R. E.; Berman, S. S.; Desaulniers, A.; Russel, D. S. Talanta **1980**, 27, 85.
- (5) Sturgeon, R. E.; Berman, S. S.; Willie, S. N.; Desaulniers, J. A. H. Anal. Chem. **1981**, 53, 2337.
- (6) Braun, T.; Abbas, M. N. Anal. Chim. Acta **1980**, 119, 113.
- (7) Stella, R.; Valentini, M. T. G.; Maggi, L. Anal. Chem. **1985**, 57, 1941.
- (8) Samara, C.; Kouimtzis, Th. A. Anal. Chim. Acta **1985**, 174, 305.
- (9) Brajter, K.; Zlotorzynska, E. D. Talanta **1986**, 33, 149.
- (10) Chwastowska, J.; Mozer, E. Talanta **1985**, 32, 574.
- (11) Lundgren, J. L.; Schilt, A. A. Anal. Chem. **1977**, 49, 974.
- (12) Parrish, J. R. Anal. Chem. **1977**, 49, 1189.
- (13) Taguchi, S.; Goto, K. Talanta **1980**, 27, 819.
- (14) Shin, Y. T.; Carr, P. W. Anal. Chim. Acta **1982**, 142, 55.
- (15) Sturgeon, R. E.; Berman, S. S.; Willie, S. N. Talanta **1982**, 29, 167.
- (16) Al-Biaty, I. A.; Fritz, J. S. Anal. Chim. Acta **1983**, 146, 191.
- (17) Prange, A.; Knochel, A.; Michaelis, W. Anal. Chim. Acta **1985**, 172, 79.
- (18) King, J. N.; Fritz, J. S. Anal. Chem. **1985**, 57, 1016.
- (19) Sakai, Y.; Mori, N. Talanta **1986**, 33, 161.
- (20) Stary, J. Anal. Chim. Acta **1963**, 28, 132.
- (21) Ashbrook, A. W. J. Chromatogr. **1975**, 105, 151.
- (22) Cote, G.; Bauer, D. J. Inorg. Nucl. Chem. **1981**, 43, 1023.
- (23) Kajiura, K.(editor); Tsubota, H. Ocean Characteristics and their Change; Kouseisha-kouseikaku: Tokyo, Japan, **1985**; pp 225 - 236.

- (24) Lakshmanan, V. I.; Lawson, G. J. J. Inorg. Nucl. Chem. **1973**, 35, 4285.
- (25) Lyman, G.; Fleming, R. H. J. Mar. Res. **1940**, 3, 136.
- (26) Ashbrook, A. W. Coord. Chem. Rev. **1975**, 16, 285.
- (27) Flett, D. S.; Hartlage, J. A.; Spink, D. R.; Okuhara, D. N. J. Inorg. Nucl. Chem. **1975**, 37, 1967.
- (28) Flett, D. S.; Cox, M.; Heels, J. D. J. Inorg. Nucl. Chem. **1975**, 37, 2197.
- (29) Harrison, G.; Lakshmanan, V. I.; Lawson, G. J. Hydrometallurgy **1976**, 1, 339.
- (30) Yamada, E.; Freiser, H. Anal. Chem. **1981**, 53, 2115.
- (31) Junk, G. A.; Richard, J. J.; Grieser, M. D.; Witiak, D.; Witiak, J. L.; Arguello, M. D.; Vick, R.; Svec, H. J.; Fritz, J. S.; Calder, G. V. J. Chromatogr. **1974**, 99, 745.
- (32) Pietrzyk, D. J. ; Chu, C. H. Anal. Chem. **1977**, 49, 757.
- (33) Vernon, F.; Nyo, K. M. Anal. Chim. Acta **1977**, 93, 203.
- (34) Hoek, P. J.; Reedijk, J. J. Inorg. Nucl. Chem. **1979**, 41, 401.
- (35) Florence, T. M. Talanta **1982**, 29, 345.
- (36) Bruland, K. W. Earth Planet. Sci. Lett. **1980**, 47, 176.
- (37) Landing, W. M.; Bruland, K. W. Earth Planet. Sci. Lett. **1980**, 49, 45.
- (38) Gordon, R. M.; Martin, J. H.; Knauer, G. A. Nature (London) **1982**, 299, 611.
- (39) Shaule, B. K.; Patterson, C. C. Earth Planet. Sci. Lett. **1981**, 54, 97.
- (40) Navratil, O.; Frei, R. W. Anal. Chim. Acta **1970**, 52, 221.
- (41) Knauer, G. A.; Martin, J. H.; Gordon, R. M. Nature(London) **1982**, 297, 49.
- (42) Mottola, H. A. CRC Crit. Rev. Anal. Chem. **1977**, 4, 229.
- (43) Bognár, J.; Jellinek, O. Magy. Kem. Foly. **1961**, 67, 73.
- (44) Bognár, J. Microchim. Acta. **1961**, 901.

- (45) Kucharkovski, R.; Doge, H. G. Z. Anal. Chem. **1968**, 238, 241.
- (46) Otto, M.; Stach, J.; Kirmse, R.; Werner, G. Talanta **1981**, 28, 345.
- (47) Otto, M.; Werner, G. Anal. Chim. Acta **1983**, 147, 255.
- (48) Otto, M.; Rentsch, J.; Werner, G. Anal. Chim. Acta **1983**, 147, 265.
- (49) Maekoya, C; Mizuniwa, F.; Usami, K.; Osumi, K. Nippon Kagaku Kaishi **1983**, 1023.
- (50) Alexiev, A. A.; Angelova, M. G. Microchim. Acta **1980**, II, 187.
- (51) Igov, R. P. ; Jaredic, M. D. Glas. Hem. Drus., Beograd **1979**, 44, 711.
- (52) Ionescu, Gh.; Duca, A; Matei, F. Microchim. Acta **1980**, I, 329.
- (53) Batley, G. E. Talanta **1971**, 18, 1225.
- (54) Yamane, T. Nippon Kagaku Kaishi **1982**, 93.
- (55) Yamane, T. Anal. Chim. Acta **1981**, 130, 65.
- (56) Costache, D. Farmacia(Bucharest) **1972**, 20, 545.
- (57) Hirayama, K.; Unohara, N. Nippon Kagaku Kaishi **1978**, 1498.
- (58) Janjic, T. J.; Milovanovic, G. A. Glas. Hem. Drus., Beograd **1972**, 37, 173.
- (59) Skeggs, L. T. Am. J. Clin. Pathol. **1957**, 28, 311.
- (60) Skeggs, L.T. Anal. Chem. **1966**, 38(6), 31A.
- (61) Henriksen, A. Analyst(London) **1965**, 90, 29.
- (62) Ružička, J.; Hansen, E. H. Anal. Chim. Acta **1975**, 78, 145.
- (63) Ružička, J.; Hansen, E. H. Anal. Chim. Acta **1979**, 106, 207.
- (64) Ružička, J.; Hansen, E. H. Flow Injection Analysis; John Wiley & Sons: New York; **1981**; pp 65-71.
- (65) Atkinson, G. F.; Mebryde, W. A. E. Can. J. Chem. **1957**, 35, 477.